

UNIVERSITÉ DE LYON
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 444

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU MICRODOSAGE DU SILICIUM

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON
SECTION DE PHARMACIE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT DEVANT LA
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

le 3 juin 1953

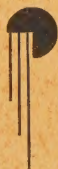
PAR

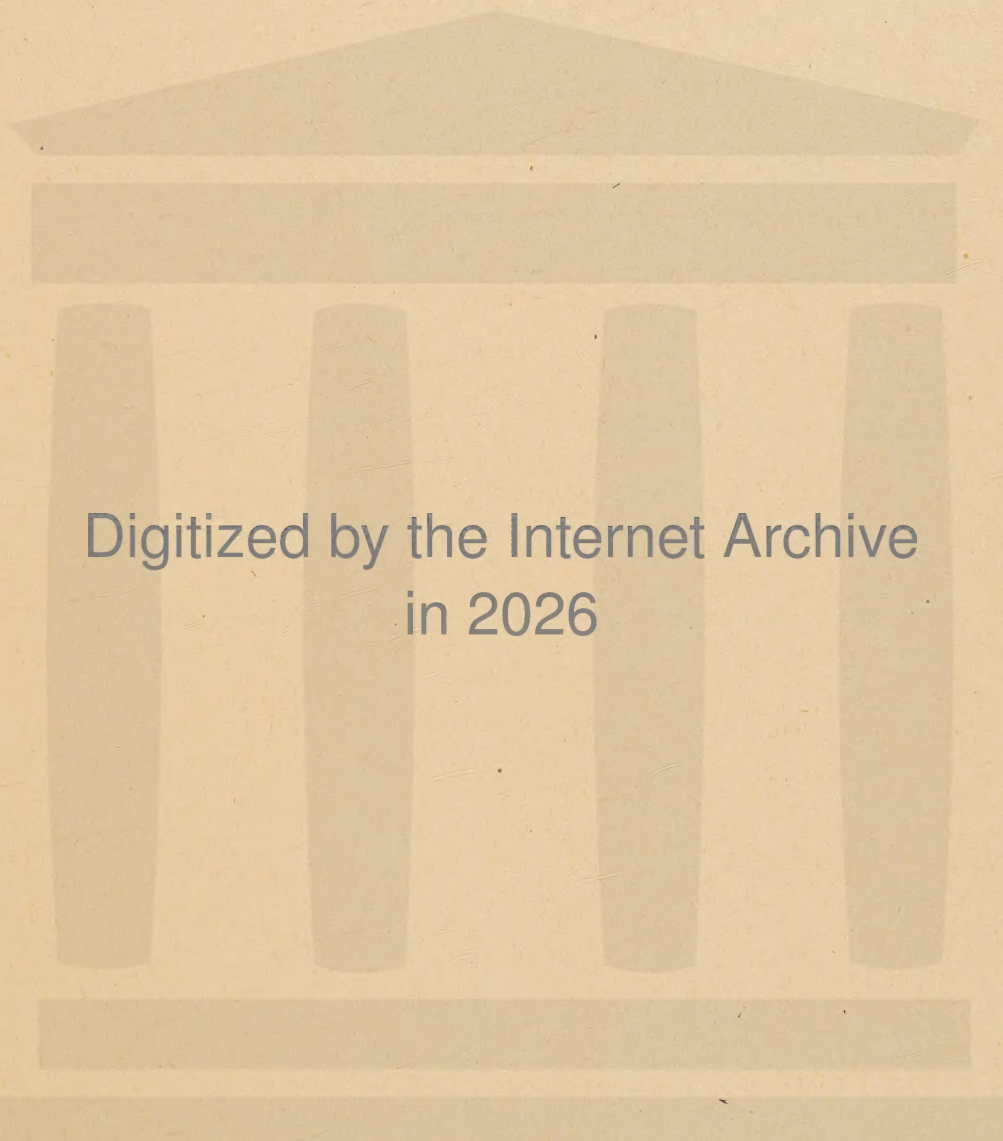
PAUL RAMEL

Pharmacien - Lieutenant

Lauréat de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de LYON

Né le 24 Juillet 1926 à CHAZEY-BONS (Ain)





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552307_0083

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU MICRODOSAGE DU SILICIUM

Travail du Laboratoire de Pharmacie et Pharmacologie

de la

Faculté Mixte de Médecine et Pharmacie de Lyon

UNIVERSITE DE LYON
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - N°

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU MICRODOSAGE DU SILICIUM

T H E S E

pour le Doctorat de l'Université de LYON
Section de Pharmacie
présentée et soutenue publiquement devant la
Faculté de Médecine et de Pharmacie
le 1953
par

P A U L R A M E L

Pharmacien Lieutenant
Lauréat de la Faculté de Médecine et de Pharmacie

né le 24 Juillet 1926

à Chazey-Bons (Ain)



Personnel de la Faculté

Doyen Honoraire	M. J. LEPINE
Doyen	M. H. HERMANN
Assesseur	M. J. GATE

Professeurs honoraires

MM. Nicolas, Villard, Cottet, Cluzet, Bérard, Guiart, Piéry, Cade, Morel, Patel, Favre, Lépine, Savy, Trillat, Leriche, Mou-
-riquand.

Professeurs

Clinique médicale A	MM. FROMENT
Clinique médicale B	P. RAVAUULT
Clinique chirurgicale A	SANTY
Clinique chirurgicale B	WERTHEIMER
Clinique ophtalmologique	BONNET
Clinique oto-rhino-laryngologique	REBATTU
Clinique urologique	CIBERT
Clinique et prophylaxie de la Tuberculose	DUFOUT
Clinique dermatologique et syphiligraphie	GATE
Clinique neuro-psychiatrique et hygiène mentale	DECHAUME
Clinique des maladies infectieuses et bactériologie	SEDALLIAN
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	GUILLEMINET
Clinique gynécologique	POLLOSSON
Clinique obstétricale	PIGEAUD
Clinique stomatologique	DUCLOS
Clinique médicale infantile et hygiène du Ier âge	BERNHEIM
Pharmacie et pharmacologie	LEULIER
Physiologie	HERMANN
Anatomie pathologique	J.F. MARTIN
Physique biologique radiologique et physiothérapie	PONTHUS (détaché à
Médecine du travail	MAZEL Beyrouth)
Parasitologie et pathologie exotique	GARIN
Thérapeutique chirurgicale et chirurgie opératoire	ROCHET
Chimie organique et toxicologie	CHAMBON
Pathologie générale et expérimentale	JOSSERAND
Hydrologie thérapeutique et climatologie	DELORE
Anatomie	GABRIELLE
Pathologie interne	CROIZAT
Chimie biologique et médicale	ENSELME
Pathologie chirurgicale	MALLET-GUY
Histologie	NOEL
Pharmacie galénique et matière médicale	REVOL
Médecine légale et déontologie	BOURRET
Thérapeutique	LEVRAT
Hygiène	SOHIER

Biologie médicale
Propédeutique chirurgicale
Botanique et cryptogamie

MM. JOURDAN
BERTRAND
NETIEN

Professeurs titulaires sans chaire

Chimie organique et toxicologique
Obstétrique
Pharmacie et pharmacologie

MM. BADINAND
BANSILLON
DREVON

Maîtres de conférences-Agrégés

Physique biologique
Parasitologie
Parasitologie
Histologie

BERGER
COUDERT
ROMAN
TUSQUES

Agrégés en exercice

Pathologie médicale

-
-
-
-

BRUN
GIRARD M.
GIRARD P.
JEUNE
VACHON

Pathologie chirurgicale .

-
-
-
-
-
-

BERARD
DESJACQUES
LABRY
TRILLAT
DARGENT
MANSUY
GUILLET

Obstétrique

-

BROCHIER
MAGNIN

Anatomie pathologique

Anatomie

Urologie

Ophtalmologie

Neuro-chirurgie

Oto-rhino-laryngologie

Dermato-syphiligraphie

Médecine légale et médecine du travail

GUICHARD
LATARJET
PERRIN
PAUFIQUE
LECUIRE
MAYOUX
THIERS
ROCHE

Chargés des fonctions d'agrégés

Chimie biologique

Bactériologie

Physiologie

Hygiène

CREYSSEL R.
BERTOYE A.
CIER
COUTURE

Chargé de cours complémentaire

Physique pharmaceutique

DORCHE

Examineurs de la Thèse :

MM. LETULIER , Président ;
 REVOL , Professeur ;
 DREVON , Professeur titulaire sans chaire;
 ROCHE , Agrégé.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les
opinions émises dans les dissertations qui lui sont
présentées doivent être considérées comme propres à leurs
auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation
ni improbation .



A mon Père et à ma Mère

en reconnaissance de tous les sacrifices
qu'ils ont consentis pour moi.

A ma Femme

A mes Beaux-Parents.

A mon Président de Thèse

Monsieur le Professeur A. LEULIER

Professeur de Pharmacie et Pharmacologie

Professeur Agrégé du Val-de-Grâce

Membre Correspondant de l'Académie de Médecine

Officier de la Légion d'Honneur

A mon Maître

Monsieur le Professeur B. DREVON

Professeur titulaire sans Chaire

à la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Lyon

Professeur Agrégé du Val-de-Grâce

A Monsieur le Professeur L. REVOL

Professeur de Pharmacie Galénique et Matière Médicale

Pharmacien-Chef de l'Hôpital Départemental du Vinatier

A Monsieur le Professeur Agrégé J. ROCHE

Professeur Agrégé de Médecine légale et Médecine du Travail

A mes Maîtres

de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon

A Monsieur le Pharmacien Colonel P. ACCOYER

Pharmacien-Chimiste du Service de Santé Militaire

Pharmacien-Chef de l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes

Officier de la Légion d'Honneur

A mes Maîtres et à mes Chefs

de l'Ecole du Service de Santé Militaire

et de l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes

Aux miens et à tous mes Amis

INTRODUCTION

Nous assistons depuis quelques années au développement remarquable de la Chimie du Silicium. La similitude des aptitudes réactionnelles de cet élément et du carbone est bien connue; le nombre des composés organo-siliciques synthétisés s'accroît de jour en jour, en même temps que leurs applications pratiques.

La richesse des résultats accumulés par les organiciens contraste de manière frappante avec la pauvreté de ceux obtenus dans le domaine de la biochimie animale, en dépit de recherches cependant nombreuses; nous en donnerons dès le début de notre travail un bref aperçu...

Ces faits en apparence surprenants trouvent leur explication dans la difficulté considérable du dosage du silicium dans les substances biologiques.

Cette difficulté s'avère beaucoup plus grande en biologie animale qu'en biologie végétale:

Dans les végétaux, qui contiennent des quantités notables de silicium, et permettent des prises d'essai relativement importantes, on peut utiliser assez aisément les macro- ou semi-microméthodes pondérales, qui ont fait leurs preuves et demeurent acceptables en dépit des critiques possibles.

Le problème se complique lorsqu'on passe au dosage du silicium dans les organismes animaux: l'abondance des méthodes proposées, ou plutôt le nombre élevé de leurs variantes, témoigne du peu de satisfaction qu'elles donnent; elles peuvent être pondérales, volumétriques, colorimétriques. - Les méthodes pondérales, longues et délicates, nécessiteraient pour être

valables des quantités de substance très importantes, car le silicium n'est dans les organismes animaux qu'un oligo-élément. Les méthodes volumétriques présentent à un degré plus faible le même inconvénient mais certaines causes d'erreur peuvent intervenir, par suite de la complexité des réactions chimiques utilisées. Les méthodes colorimétriques sont donc la plupart du temps seules applicables, mais leur mise en pratique est difficile, car de nombreux facteurs physico-chimiques méconnus jouent un grand rôle dans les réactions mises en jeu, et de nombreux éléments toujours présents à côté du silicium sont capables de donner naissance à des colorations parasites.

Aussi les résultats obtenus jusqu'à présent, envisagés dans leur ensemble laissent perplexe et ne permettent en tout cas aucune conclusion certaine.

Une révision minutieuse du problème de la micro-colorimétrie du silicium s'impose donc. Nous l'avons tentée dans ce travail. Nous avons été ainsi conduits à mettre au point une technique personnelle tenant compte des difficultés observées et étudiées. Nous lui avons donné ensuite quelques applications.

En nous faisant l'honneur de nous accepter dans son laboratoire, Monsieur le Professeur LEULIER nous a permis d'accomplir ce travail. Il nous a constamment aidé par sa longue expérience et ses judicieux conseils, stimulé par la rigueur de son esprit scientifique. Nous lui exprimons notre profonde gratitude et notre réelle admiration.

C'est Monsieur le Professeur Agrégé DREVON qui a eu l'idée de ce travail et qui l'a guidé pas à pas, l'animant inlassablement par ses suggestions, ses conseils, ses encouragements. Nous n'oublierons pas la sympathie et la bienveillance qu'il nous a témoignées dès le jour où nous l'avons connu et tout au long de nos études. Nous voudrions lui présenter ici le témoignage de notre profonde reconnaissance et l'assurer de notre respectueux attachement.

Monsieur le Professeur REVOL nous fait l'honneur d'être notre juge. Durant nos années de Faculté, il n'a cessé de nous encourager par sa bienveillance souriante. Nous sommes heureux de lui présenter aujourd'hui l'expression de notre respectueuse gratitude.

Monsieur le Professeur Agrégé ROCHE a bien voulu s'intéresser à notre travail. Ses conseils concernant certaines applications médico-légales de la technique de dosage proposée nous ont été des plus utiles. Il nous fait aujourd'hui l'honneur de participer à notre jury. Nous le remercions très vivement.

Nous avons fait mainte et mainte fois appel à l'aide dévouée et à la compétence de Mademoiselle A. BERNARD, Docteur ès-Sciences. Elle nous a fait aimer le laboratoire dans lequel elle entretenait une ambiance si cordiale. Nous la remercions et nous tenons à l'assurer de nos respectueux et affectueux sentiments.

C'est à l'Hôpital Militaire Desgenettes, dans le service de Monsieur le Pharmacien Colonel ACCOYER, que nous avons achevé ce travail. Pour nous en donner le loisir, il n'a ménagé ni son temps ni sa peine, et n'a cessé de nous encourager d'une manière véritablement paternelle. Qu'il trouve ici l'expression de notre respectueuse reconnaissance et du dévouement que nous espérons pouvoir lui prouver.

PLAN DU TRAVAIL

Première partie : GENERALITES

- Chapitre I : Le silicium en biologie animale.
- Chapitre II : Les méthodes de dosage du silicium utilisables en biologie.
-

Deuxième partie : TRAVAUX PERSONNELS

- Chapitre III : Choix et expérimentation d'une méthode de dosage du silicium en biologie. Etude critique de la méthode de PARRI et SCOTTI.
- Chapitre IV : Etude systématique des facteurs physico-chimiques intervenant dans la formation et la réduction du complexe silico-molybdique. Influence perturbatrice de certains ions; moyens de l'éviter.
- Chapitre V : Applications hydrologiques : Dosage de la silice dans les eaux minérales ou alimentaires.
- Chapitre VI : Dosage du silicium dans les milieux biologiques (Mode opératoire personnel).
- Chapitre VII : Applications biologiques.
- Chapitre VIII : Applications médico-légales : Dosage et localisation du silicium dans le poumon normal et silicotique.
-

Première partie : GENERALITES

Chapitre I :

LE SILICIUM (°) EN BIOLOGIE ANIMALE

La présence du silicium est constante dans les organismes animaux. L'anhydride silicique ou silice constitue une importante fraction du poids global des cendres de l'organisme humain.

Le silicium existe dans tous les organes et dans tous les tissus, en proportions variables. Mais les chiffres donnés par les auteurs ne concordent pas. Ces divergences sont vraisemblablement imputables aux méthodes analytiques mises en oeuvre.

Les recherches déjà fort anciennes et parfois critiquées (HOPPE - SEYLER (47)) de HENNEBERG (44), GORUP-BESANEZ (43), ROGER (103), puis celles de KUNKEL (68), KALL (56), GAUBE du GERS (36), SCHULZE (108), GONNERMANN (42), ISAACS (51) faisaient ressortir la présence de quantités relativement importantes de silicium dans les phanères, les tendons, les aponévroses, les glandes à sécrétion interne (pancréas, surrénales, foie, thymus), les poumons, le cerveau ...

(°) Remarque : Conformément au langage employé par la majorité des auteurs, nous parlerons indifféremment de la " silice " ou du " silicium ". - Mais il est bon de souligner qu'un tel mode d'expression, susceptible d'engendrer des idées fausses, devrait être rejeté. La silice n'est pas la seule forme d'existence du silicium dans les organismes vivants ... Sans doute faut-il voir l'origine de ce vocable impropre, dans le fait que la silice constitue la forme obtenue au terme du dosage du silicium par la voie pondérale classique longtemps seule employée, et constitue également l'espèce minéralogique la plus répandue.

Mais les travaux plus récents de KING (57), KING et STANTIAL (61), KING, STANTIAL et DOLAN (62), FRANCK et GERSTEL (34) BODNAR et TOROK (9), KRAUT et WEBER (67) etc.... ont conduit leurs auteurs à des résultats moins démonstratifs. - C'est ainsi que tous reconnaissent la présence du silicium dans le sang mais sont loin de s'entendre sur sa quantité ainsi qu'en témoignent les chiffres obtenus par les méthodes décrites au second chapitre et rassemblés dans le tableau suivant; on constatera leur discordance profonde, qui interdit toute conclusion :

Teneur moyenne en silicium, du sang ou du plasma sanguin
chez l'homme, d'après divers auteurs :

Années	A U T E U R S	Référence N°	Objet de l'analyse	Silicium exprimé en mg de silice (O ₂ Si) par litre
1917	GONNERMANN	(42)	Sang	200
1931	KRAUT	(66)	-	16
1933	KING et STANTIAL	(61)	-	9
1933	KING, STANTIAL & DOLAN	(62)	-	7 à 27
1938	FRANCK & GERSTEL	(34)	-	5 à 32
1939	BODNAR & TOROK	(9)	-	13
1939	RICHTER	(101)	-	130 à 180
1942	KRAUT & WEBER	(67)	-	5,5
1945	GETTLER & UMBERGER	(37)	-	5 à 200
1949	GOHR & SCHOLL	(40)	-	16
1933	PARRI & SCOTTI	(92)	Plasma	350

On peut faire des remarques analogues en ce qui concerne les quantités de silicium trouvées dans la plupart des organes et tissus.

Etat :

L'état du silicium dans l'organisme demeure presque inconnu. Les travaux de KAHANE et ANTOINE (53) établissent une distinction fondamentale entre la silice dite " de constitution " et la silice dite " d'interposition".

- la silice de constitution, dissoute, diffusible, circulante, est seule susceptible de participer au métabolisme général;

- la silice d'interposition, est de nature cristalline, insoluble, et sa présence dans les tissus est purement accidentelle. La silice du poumon en est un bel exemple. Mais LEMATTE et KAHANE (76), puis ANTOINE (3) ont également mis en évidence dans le sang circulant ainsi que dans les divers tissus des particules siliceuses de nature cristalline appartenant à cette catégorie.

Il n'est pas exclu que la silice d'interposition puisse être transformée en silice de constitution sous l'action des liquides biologiques.

Les travaux de KING, STANTIAL et DOLAN (62), KING et GEORGES (59) semblent même apporter la preuve de cette hypothèse.

La silice des organismes animaux provient de deux sources principales :

- l'apport alimentaire, en ce qui concerne la silice de constitution ;

- l'absorption pulmonaire, en ce qui concerne la silice d'interposition.

Les expériences de KING, STANTIAL et DOLAN (62) KING et GEORGES (59) prouvent la solubilisation au moins partielle de la silice apportée

par les aliments, donc " a fortiori " des silicates : l'ingestion de silice pulvérisée provoque une décharge de silicates dans les urines, sans modifier la teneur du sang en silicium; le seuil d'excrétion serait donc très bas.

On connaît bien peu de choses sur l'état du silicium circulant: les particules micro-cristallines signalées par LEMATTE et KAHANE (76) et ANTOINE (3), et dont on soupçonne l'origine respiratoire, sont probablement l'exception. On admet l'existence de silicates dissous, de silice " colloïdale " ou solubilisée par l'anhydride carbonique du sang.

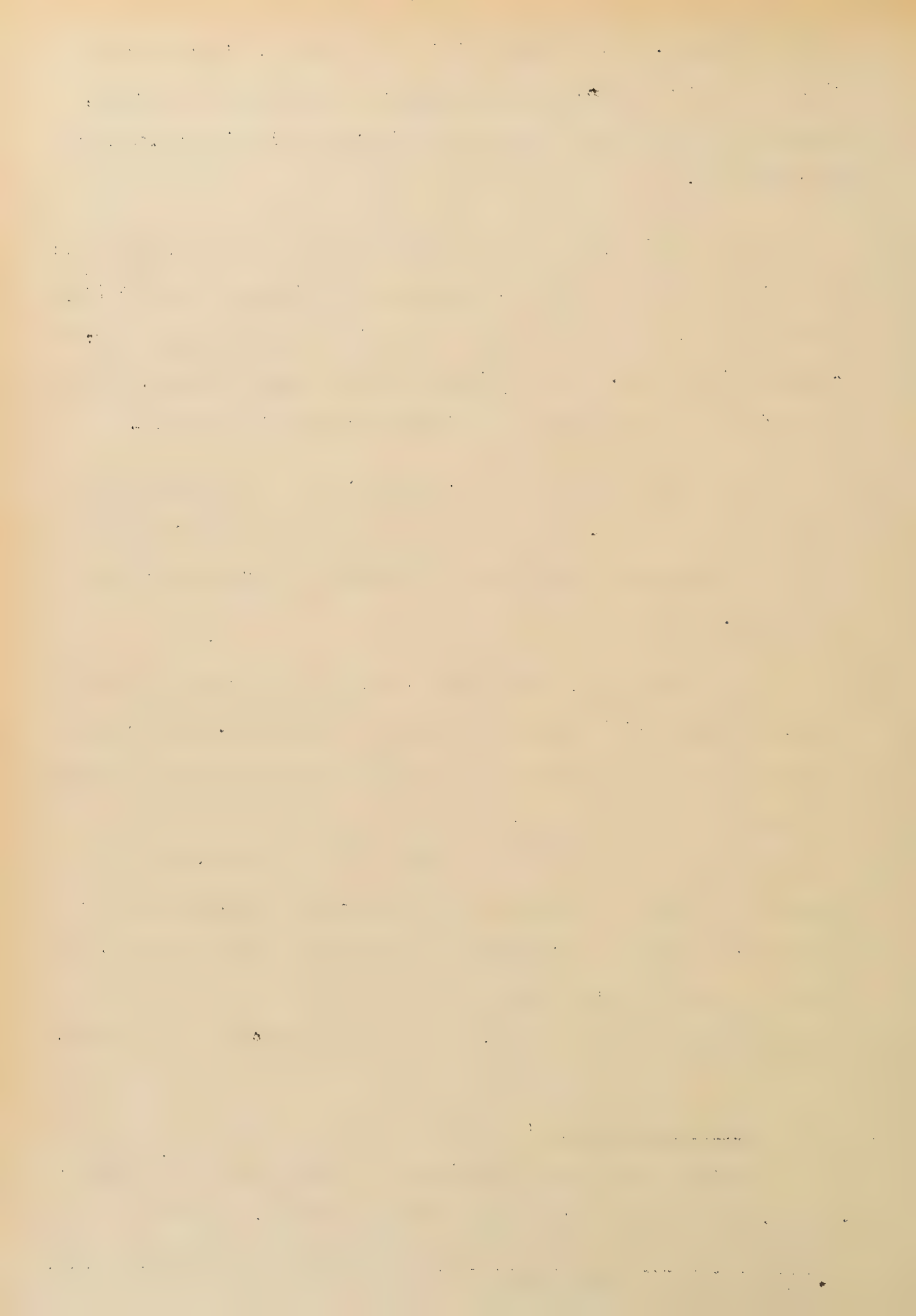
Même ignorance en ce qui concerne l'état de la silice contenue dans les divers tissus. Notons cependant que pour beaucoup d'auteurs la silice de constitution ferait partie intégrante de certaines molécules organiques.

LADENBURG (70), FRAUENBERGER (35), DRECHSEL (°)(27), SCHULZE (108), GONNERMANN (42) avaient déjà émis cette hypothèse. ISAACS (51) partageait cet avis et pensait que la silice peut constituer des complexes avec certaines substances de nature lipopéidique en particulier dans le cerveau où elle existe selon lui en assez fortes quantités. Selon les travaux tout récents de HOLZAPFEL et KERNER-ESSER (46), OHLEMAYER et OLFF (91) la silice de constitution existerait, en partie au moins, sous forme de combinaisons organiques (du type " ester ") participant à la constitution de certains lipides, ou chimiquement associées aux stérols.

Rôle physiologique :

Partant de ces bases expérimentales fragiles et souvent contestables, on a édifié des hypothèses séduisantes certes, mais assez

(°°) - critiqué par CERNY (16)



fantaisistes, sur le rôle du silicium en biologie animale. Les auteurs anciens : GORUP-BESANEZ (43), BUNGE (15), KALL (56), GAUBE du GERS (36), SCHULZE (108), ont sans aucun doute exagéré le rôle de cet élément. A leur avis la silice, sorte de ciment interstitiel serait un élément structural indispensable à l'homme et aux animaux, et c'est d'elle que dépendrait l'élasticité des tissus. La teneur des organismes en silicium décroîtrait avec l'âge, ce qui entraînerait en même temps qu'une moindre souplesse des tissus, une modification de certains processus physiologiques.

La question n'a guère progressé depuis. DUCLAUX (28) considère la silice comme un catalyseur minéral très puissant. S'appuyant sur les travaux de A. et A. MARY (83), confirmés par les recherches d' ABELOUS, ALOY et LALAURIE (I), BOUDARD (II) pense qu'elle joue ce rôle à l'état de dispersion colloïdale et qu'elle peut remplacer un certain nombre de diastases naturelles. Mais de là à décrire avec PFEIFFER (93) un véritable " syndrome de l'anémie siliceuse ", il y a loin... Dans le même ordre d'idée la haute teneur en silicium du pancréas, signalée par KUNKEL (68), KALL (56) GONNERMANN (42) ISAACS (51) etc..., n'autorise pas à conclure avec CHEVALLIER (21) que cet organe règle l'absorption et la répartition de la silice dans l'organisme.

Toute une école a cru voir dans l'insuffisance de l'alimentation en silicium une des causes du développement du cancer. Citons en particulier les recherches de NASON (88) en Angleterre, de KOLB (65) en Allemagne, de PRINTZING (99) en Italie, de BARTH (7) en Suisse. En France, LERICHE (J.) (77) partage cet avis et prétend que la confrontation de la carte statistique du cancer avec la carte géologique permet une constatation semblable : le cancer est rare là où le silicium est abondant. La relation causale, si elle existe, est cependant bien loin d'être établie.

ROBIN (102), puis MARQ (81), et quelques autres, ont enfin signalé une véritable " déminéralisation siliceuse " des tissus malades dans la tuberculose pulmonaire.

De ces constatations à l'utilisation des composés du silicium en thérapeutique, il n'y a qu'un pas.

ROBIN (102), ZELLER (121), REGNAULT (100); LERICHE (J.) (77), affirment avoir obtenu de bons résultats dans le traitement du cancer ou dans sa prévention, par l'administration de silicates divers, ou de silice colloïdale.

Le silicate de potassium (ROBIN (102), MARQ (81)), et quelques esters organo-siliciques (HESSE et MEISSNER (45)), ont été utilisés dans le traitement de la tuberculose pulmonaire, où ils étaient censés favoriser " l'encapsulation des foyers tuberculeux par le tissu conjonctif, et la cicatrisation des cavernes " (KOBERT (64), ZICKGRAF (122)). - De même, de nombreuses préparations à base de silice ont été préconisées dans le traitement de l'artério-sclérose (SCHOEFFLER, SARTORY et PELISSIER (107)). - Mais ces tentatives, comme les recherches analytiques sur lesquelles elles prétendaient se fonder, semblent avoir été trop souvent dominées par des idées préconçues.....

Chapitre II

LES METHODES DE DOSAGE DU SILICIUM

UTILISABLES EN BIOLOGIE

Les techniques proposées pour doser le silicium dans les substances organiques sont nombreuses mais s'inspirent d'un nombre très restreint de principes. Pour la clarté de l'exposé, nous envisagerons successivement :

1°- Les méthodes pondérales, basées sur l'insolubilisation de la silice par les acides concentrés et la chaleur. Nous en présenterons au fur et à mesure la critique éventuelle.

2°- Les micro-méthodes colorimétriques, qui ont naturellement à l'heure actuelle la préférence pour le dosage du silicium dans les milieux biologiques, et dont nous remarquerons l'unité de principe. Leur étude critique sera faite dans la seconde partie de ce travail, puisque nos recherches personnelles portent précisément sur ce point.

3°- Les méthodes volumétriques, qui font d'ailleurs appel au même principe que les précédentes et gagnent à être exposées à leur suite.

I - LES METHODES PONDERALES

I°-) Méthode pondérale dite " classique "

C'est la plus anciennement employée. Les auteurs allemands : GORUP-BESANZ (43), KUNKEL (68), SCHULZE (108), GONNERMANN (42) etc..., l'ont amenée à sa forme définitive.

Le résidu minéral de l'incinération de la substance est soumis à une fusion alcaline. La silice des silicates alcalins résultant de cette opération est alors insolubilisée par additions répétées d'acide chlorhydrique suivies de chauffages à sec sans dépasser $+115^{\circ}\text{C}$. On termine par un chauffage au rouge sombre qui rend la silice parfaitement insoluble dans l'eau et les acides faibles ou forts. Le résidu est traité par l'acide chlorhydrique dilué, à plusieurs reprises, pour dissoudre et éliminer les sels métalliques; on opère par décantations successives. La silice résiduelle, recueillie sur un filtre sans cendres, est lavée finalement à l'eau chaude chlorhydrique. On pèse après dessiccation et calcination du filtre au four à moufle.

Soulignons que le premier temps de cette technique (fusion alcaline des cendres avant l'insolubilisation de la silice) est absolument nécessaire si l'on veut obtenir un résultat exact: Les travaux de LEMATTE, BOINOT, et KAHANE (74) l'ont démontré, et nous l'avons nous même vérifié en dosant la silice dans les cendres pulmonaires. " Si l'on reprenait directement les cendres par l'acide chlorhydrique, le résidu compté finalement comme silice pure serait beaucoup trop lourd, comme le montre

un traitement par l'acide fluorhydrique qui laisse un résidu important ". LEMATTE, BOINOT, et KAHANE pensent qu'il s'est formé au cours de l'incinération " des silicates inattaquables par les acides".

Pratiquée de la manière décrite, la méthode classique est une bonne méthode, mais qui présente deux inconvénients majeurs :

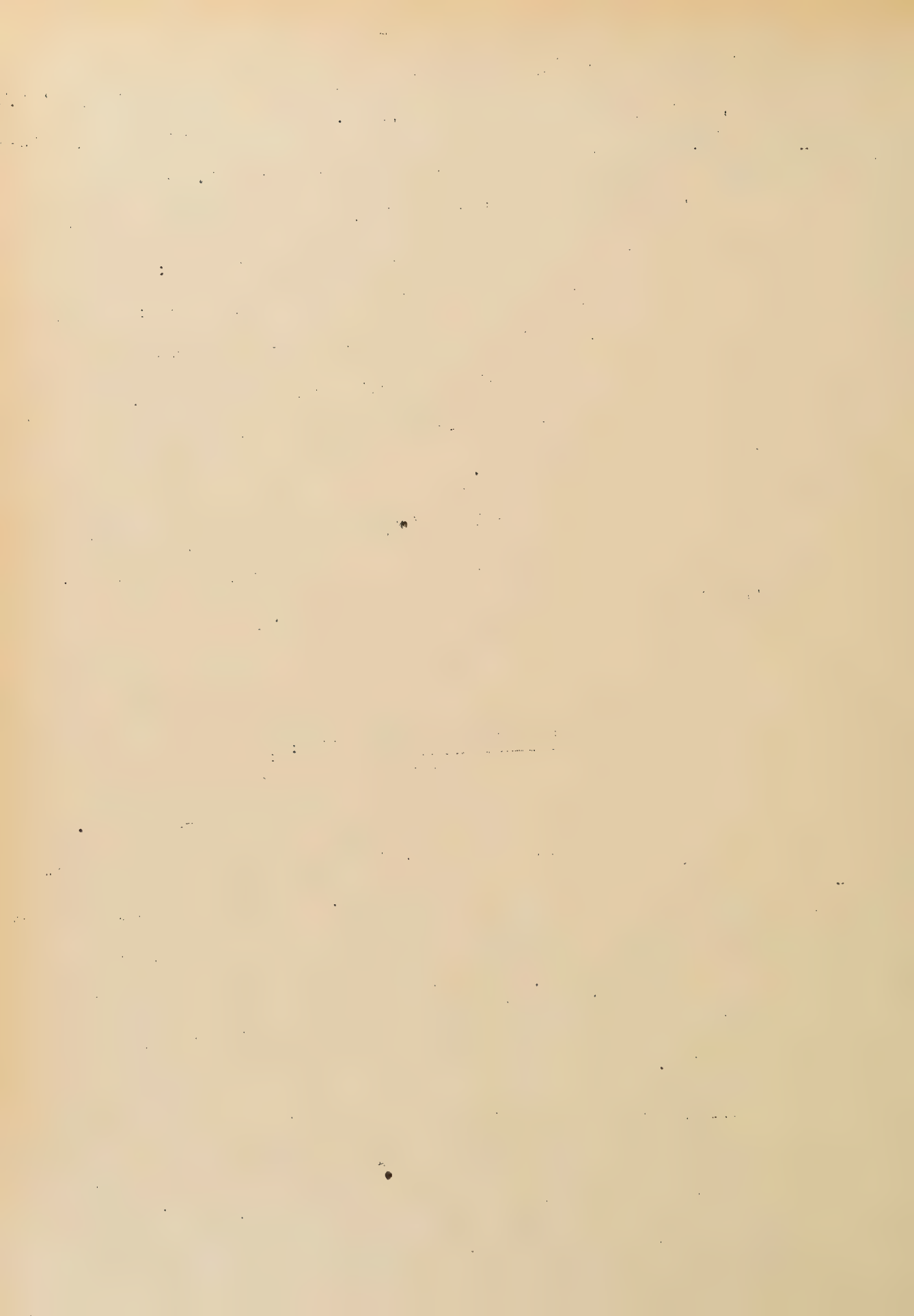
a) elle exige une quantité importante de substance : plusieurs centaines de grammes, si l'on doit se contenter pour la pesée finale de la silice, de la balance de précision ordinaire, sensible au dixième de milligramme, c'est donc une macro-méthode, qui ne sera pas toujours applicable, surtout en biologie.

b) la longueur des manipulations est considérable, et souvent augmentée encore par les difficultés de l'incinération, en particulier lorsqu'il s'agit de substances de nature lipidique.

2°) METHODE DE KRAUT (66) :

La substance est minéralisée par la méthode sulfo-nitrique . La silice est par là-même insolubilisée. Elle est séparée par une filtration suivie de lavages prolongés et contrôlés. On pèse après calcination. Le résidu est traité à plusieurs reprises par l'acide fluorhydrique associé à l'acide sulfurique. Le silicium est ainsi volatilisé sous forme de fluorure; une seconde pesée permet de calculer par différence, le silicium entraîné.

KVIST (69) a critiqué l'association de l'acide sulfurique à l'acide fluorhydrique, et prétend que pour obtenir des résultats constants, il faut traiter le résidu par l'acide fluorhydrique seul, car l'anion sulfurique en se fixant sur le résidu entraîne une augmentation de son



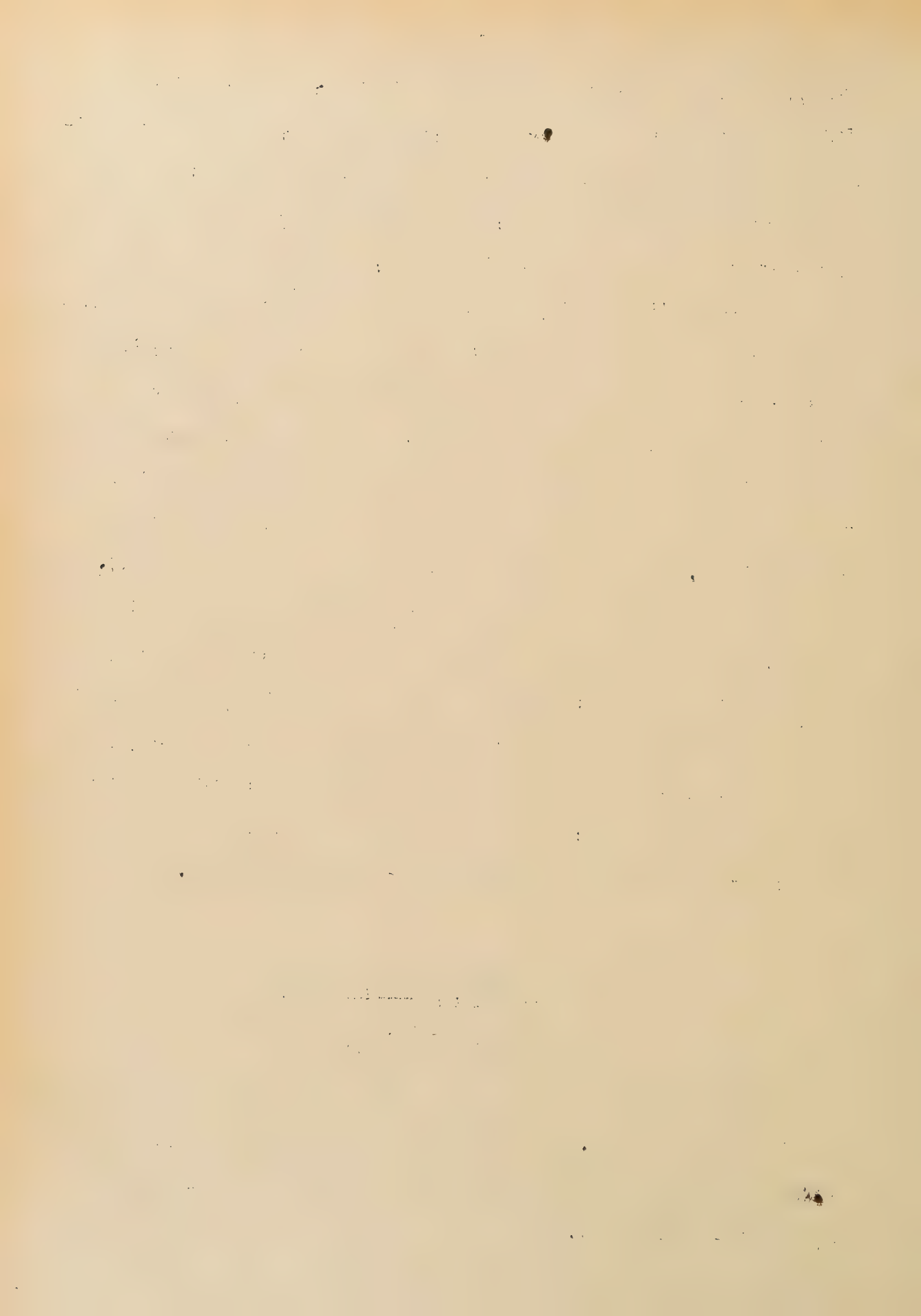
poids, donc une erreur par défaut sur le silicium. Mais il signale d'autre part que l'acide fluorhydrique, employé seul, risque de volatiliser partiellement les oxydes de fer et de calcium résiduels; il en résulterait une erreur par excès. La détermination rigoureuse de la silice s'avère donc pratiquement impossible.

Quoi qu'il en soit, les chiffres publiés par KRAUT (66) en 1931 sont incontestablement trop élevés; l'auteur l'a d'ailleurs lui-même reconnu, et les chiffres donnés par KRAUT et WEBER en 1942 (67) sont beaucoup plus faibles que les précédents. - Dans une récente publication GOHR et SCHOLL (40) remarquent à propos de la méthode de KRAUT (66) que " tout se passe comme si d'autres substances que le silicium étaient volatilisées ". Ce qui va à l'encontre des conclusions de KVIST (69). Il est cependant certain que ces dernières sont plus conformes à la théorie, et que l'explication des chiffres de KRAUT (66) nécessiterait de sérieuses recherches : Elle est d'autant plus difficile à donner que la technique suivie par l'auteur est sujette à une autre critique, sans doute plus grave (sur laquelle nous reviendrons plus longuement à propos de la méthode suivante) : celle qui a trait à la solubilité éventuelle de la silice dans les acides minéraux même concentrés et chauds.

3°) LEMATTE, BOINOT, KAHANE

et Collab.(74- 75- 54- 52-53)

ont néanmoins repris la technique de KRAUT (66) et semblent en avoir tiré des résultats meilleurs. La " méthode de KAHANE " est rapide, et permet d'opérer sur d'importantes quantités de tissus végétaux (74-75) ou animaux (74- 76- 52- 53).

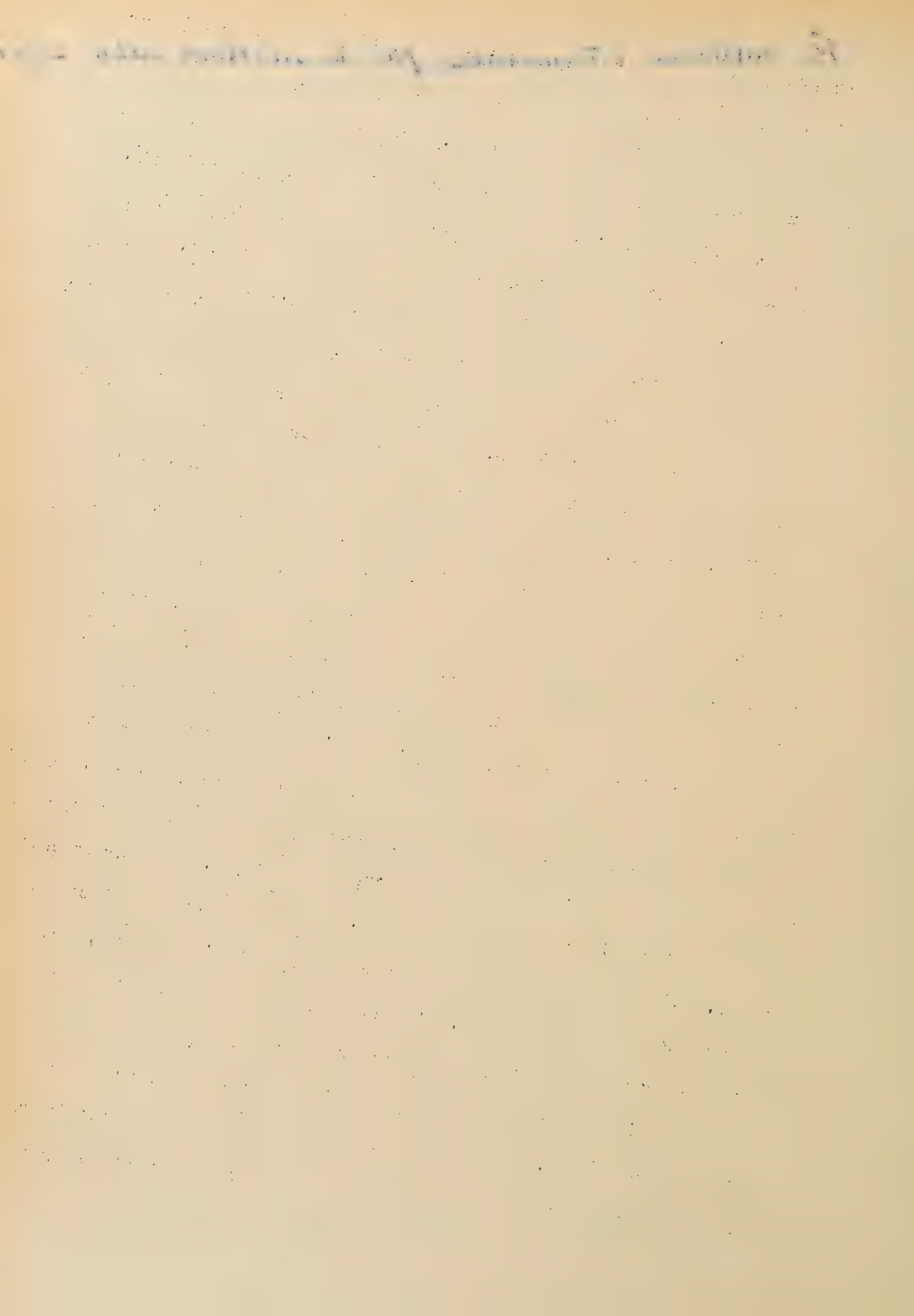


La silice est minéralisée par la méthode nitro-sulfurique

ou nitro-sulfo-perchlorique. La silice insolubilisée est séparée par filtration puis pesée après lavages et incinération. La totalité du résidu est ainsi comptée comme silice. Afin d'augmenter la sélectivité du dosage, le résidu des opérations précédentes, une fois pesé, peut être traité par l'acide fluorhydrique seul ou associé à l'acide sulfurique suivant la technique de KRAUT (66) (voir page 21). Sa perte de poids par départ du fluorure de silicium correspond, dit KAHANE, à la quantité exacte de silice qu'il contient.

Bien qu'élégante et rapide, cette méthode n'en est pas moins sujette à nombreuses critiques. Celles qui ont trait à l'emploi du mélange sulfofluorhydrique ont déjà été notées à propos de la méthode de KRAUT (page 22). Mais d'autre part, il n'est pas absolument certain que la silice, aux doses recherchées, soit totalement insolubilisée par les acides concentrés qui servent à la minéralisation. TREADWELL (115), MEIER et FLEISCHMANN (84), CHARLOT et BEZIER (18), et beaucoup d'autres, ont fait état d'une certaine solubilité de la silice dans les acides, même concentrés, lorsqu'elle n'a pas été complètement déshydratée par chauffage préalable à haute température. LEMATTE, BOINOT et KAHANE (74- 75- 54- 52) eux-même, admettent la très faible solubilité de la silice dans l'acide perchlorique concentré, en assurant qu'il ne peut en résulter une erreur notable. Les travaux de WILLARD et CAKE (119), puis ceux de MEIER et FLEISCHMANN (84) ont d'ailleurs apporté la preuve que sans être parfait, l'acide perchlorique bouillant est le meilleur agent connu d'insolubilisation de la silice.

Ainsi la " méthode de KAHANE " demeure-t-elle, malgré ces critiques de détail, une bonne macro-méthode, mais qui ne saurait en tout cas être adaptée sans de sérieuses réserves à la micro-analyse.



4°) MORGAN ET KING (87)

traitent les cendres de la substance par l'acide perchlorique pour insolubiliser la silice, puis séparent cette dernière du liquide ambiant à l'aide d'une baguette filtrante. La quantité de silice est évaluée par différence après attaque par le mélange sulfo-fluorhydrique.

Cette méthode, qui permet selon les auteurs un semi-microdosage, est sujette aux mêmes critiques que la précédente, dont elle dérive.

5°) KING ET WATSON (58)

ont proposé une autre semi-micro-méthode pondérale inspirée d'un principe tout différent, sur lequel nous reviendrons à propos des méthodes colorimétriques (voir page 26). Le résidu de l'incinération de la substance est soumis à une fusion alcaline qui transforme la silice en silicate soluble. Ce dernier est ensuite transformé en silicé-molybdate de pyramidon, de masse moléculaire élevée, que l'on recueille et que l'on pèse.

Cette méthode délicate a cédé le pas aux méthodes colorimétriques dérivant du même principe.

II- LES METHODES COLORIMETRIQUES :

Les meilleures méthodes colorimétriques (ADAMS (2)) reposent sur la formation, dans certaines conditions, d'un complexe silico-molybdique (°) dont on peut évaluer l'intensité de coloration avant ou après réduction. Il en dérive deux catégories de méthodes :

A- Celles qui évaluent l'intensité de la coloration jaune du silico-molybdate d'ammonium.

B- Celles qui évaluent l'intensité de la coloration bleue de certains oxydes inférieurs du molybdène qui prennent naissance lors de la réduction du silico-molybdate d'ammonium, et sont communément désignés sous le nom de " bleu de molybdène " (°°).

(Il va sans dire que le silicium doit être tout d'abord amené sous une forme "réagissante" : car seuls les silicates alcalins solubles sont capables de participer à la formation du complexe. On atteindra ce but en minéralisant d'une manière adéquate la substance à analyser : nous reviendrons sur ce point dans la description particulière des principales méthodes proposées jusqu'à ce jour (voir page 35).

La mise en application de ce principe très simple se heurte à des difficultés considérables.

(°) La formule habituellement admise pour l'acide silico-molybdique est la suivante : $(\text{Si}(\text{Mo}_2 \text{O}_7)_6) \text{H}_8$ - dans laquelle le molybdène entre avec la valence 6; dans les silico-molybdates l'hydrogène est naturellement remplacé par un métal.

(°°) Le bleu de molybdène semble être un " oxyde de salin ", (molybdate d'oxyde de molybdène) de formule $3 \text{O}_3\text{Mo}, \text{O}_5\text{Mo}_2, 6 \text{OH}_2$.

La principale est due à la présence habituelle dans le milieu réactionnel, de certains éléments gênants que nous allons successivement passer en revue :

I - Le PHOSPHORE et l'ARSENIC..-(°) sous forme d'anions, sont capables de former des complexes molybdiques réductibles en bleu de molybdène.

L'arsenic ne se rencontre dans les milieux biologiques qu'en très faibles quantités. Ainsi que nous le montrerons plus loin, cet élément ne réagit d'ailleurs pas exactement de la même manière que le silicium. Il n'en est pas de même du phosphore, toujours présent en quantités relativement importantes, et que la minéralisation alcaline transforme en phosphates et pyrophosphates. Ces sels réagissent à quelques modalités près, comme les silicates. Leur action perturbatrice conduit donc :

- soit à les éliminer,
- soit à "inhiber" leur réaction.

On y parvient par des procédés variés dont nous préférons remplacer la trop longue description par les deux tableaux suivants :

(°) Le Germanium (sous forme de germanates) peut aussi réagir mais n'intervient naturellement pas dans l'analyse des milieux biologiques.

ELIMINATION DES PHOSPHATES

dans le dosage colorimétrique du silicium

par formation de complexe molybdique

(Principales méthodes employées)

Principe de la méthode	Auteurs	Référence n°
Précipitation sous forme de phosphate ammoniaco-magnésien	KING	(57)
—	THAYER	(112)
—	ROMAN	(104)
—	BODNAR & TOROK	(9)
Précipitation sous forme de phosphate neutre de calcium par le chlorure de calcium et l'hydroxyde d'ammonium	KING & STANTIAL	(61)
Précipitation sous forme de phosphomolybdate d'ammonium	LASSIEUR	(72)
Insolubilisation de la silice, puis séparation de celle-ci (par filtrations et lavages) du milieu contenant les ions gênants	VIVARIO & CONHAIRE	(118)
—	KING & STANTIAL	(61)
—	GOHR & SCHOLL	(40)
Extraction du phospho-molybdate d'ammonium par l'acétate d'éthyle	HURE & ORTHIS	(49)

"INHIBITION" DES PHOSPHATES

dans le dosage colorimétrique du silicium

par formation de complexe molybdique

(Principaux réactifs employés cités dans l'ordre chronologique)

Années	Auteurs	Référence n°	Réactifs utilisés
I922	DENIS & MEYSENBURG	(25)	Acide citrique
I924	ISAACS	(5I)	Acide acétique
I93I	THSCHOPP	(II4)	Acide tartrique
I933	PARRI & SCOTTI	(92)	Citrate mono-acide d'ammonium
I939	THIEL	(II3)	Acide citrique et hydroxyde d'ammonium
I942	SCHWARTZ	(IO9)	Acide oxalique Acide citrique Acide tartrique
I942	ZIMMERMANN	(I23)	Acide oxalique
I942	KRAUT & WEBER	(67)	Acide oxalique
I943	BOYLE & HUGHEY	(I2)	Tartrate d'ammonium
I945	GETTLER & UMBERGER	(37)	Acide oxalique
I947	BOLTZ & MELLON	(IO)	Acide tartrique

2 - LE FER (sous forme d'ion ferrique)

donne avec l'acide silico-molybdique un complexe plus coloré que le silico-molybdate d'ammonium aussi l'ion ferrique peut-il apporter dans certains cas une importante coloration parasite (THAYER (112)). D'autre part, dans le cas très fréquent en biologie de la présence simultanée de phosphates et de fer (foie, rate, pancréas, poumons, muscles, sang....), il peut y avoir formation de phospho-molybdate de fer très coloré, d'où résulterait une erreur considérable.

Nous réunissons dans le tableau suivant quelques unes des méthodes utilisées pour éliminer le fer ou inhiber son action.

ELIMINATION OU " INHIBITION " DU FER

dans le dosage colorimétrique du silicium

par formation de complexe molybdique

(Principales méthodes employées, citées dans l'ordre chronologique)

Années	Auteurs	Référence n°	Principe de la Méthode
1923	DIENERT & WANDENBULCKE	(26)	Précipitation du fer à l'état d'hydroxyde ferrique, par barbotage d'air.
1928	KING	(57)	Précipitation du fer à l'état d'hydroxyde ferrique, combinée à la précipitation de l'ion phosphorique à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien.
1930	THAYER	(112)	Précipitation du fer par le phosphate de sodium en milieu acétique, suivie de l'élimination des phosphates à l'état de sel ammoniaco-magnésien.
1933	PARRI & SCOTTI	(92)	"Inhibition" du fer par le citrate mono-acide d'ammonium.
1933	KING & STANTIAL	(61)	Précipitation du fer sous forme de phosphate ferrique en milieu légèrement sulfurique.
1939	BODNAR & TOROK	(9)	"Inhibition" du fer par formation d'un complexe avec le cyanure de potassium et l'acide citrique.
1942	KRAUT & WEBER	(67)	Transformation du fer en chlorure ferrique, et extraction de ce dernier par l'éther.
1943	BOYLE & HUGHEY	(12)	"Inhibition" du fer par le tartrate d'ammonium.
1949	GOHR & SCHOLL	(40)	Elimination du fer par "lavages" à l'acide chlorhydrique, après insolubilisation de la silice.

3 - LE FLUOR (sous forme d'ion fluorhydrique)

gêne le dosage en faisant disparaître la coloration jaune du silico-molybdate d'ammonium par formation d'un complexe silico-fluorhydrique. L'addition d'acide borique, indiquée par ERABSON et COLLAB.(13), CHARLOT & GAUGUIN (19) etc.... (20 parties de B (OH) 3 pour une partie de fluor) rétablit quantitativement la coloration. On arrive au même résultat par addition de sels d'aluminium trivalent (HURE et ORTHIS (49)).

La présence du fluor en quantités importantes est fréquente dans les substances d'origine biologique; citons en particulier le cas du tissu osseux. D'autre part, dans un prélèvement de sang sur fluorure, le dosage du silicium ne serait possible qu'en usant du procédé indiqué ci-dessus.

4 - Les autres ions gênants

sont nombreux, mais n'interviennent pas dans les dosages portant sur des substances biologiques car ils ne sont présents qu'en quantités très faibles ou nulles, et n'agiraient qu'à des concentrations notables; la précipitation du zirconium, de l'étain et du titane tétravalents, du tungstène hexavalent, pourrait d'ailleurs être évitée par l'addition d'ions citriques ou tartriques. Il est possible aussi d'ajouter un fluorure pour les transformer en complexes, puis une quantité d'acide borique juste suffisante pour détruire le complexe silicique, sans toucher aux autres complexes beaucoup plus stables. (On pourrait d'ailleurs éliminer d'une façon analogue l'influence gênante de l'ion ferrique).

5 - Les substances réductrices

si elles existent dans le milieu réactionnel doivent être préalablement oxydées. C'est ainsi que DIENERT et WANDENBULCKE (26) (voir page 35), avant de doser le silicium dans les eaux sulfureuses, leur font subir un traitement par le brome, dont ils chassent le léger excès par barbotage d'air. Mais dans la généralité des cas qui nous préoccupent ce problème ne se pose pas, puisque les substances biologiques sont minéralisées par une fusion alcaline suffisamment oxydante.

o o o

L'utilisation judicieuse des moyens décrits ci-dessus est susceptible de permettre un dosage du silicium assez sensible et sélectif, par colorimétrie du complexe jaune silico-molybdique. - Mais dans le but d'accroître la précision des résultats, beaucoup d'auteurs ont préféré évaluer l'intensité de la coloration du " bleu de molybdène " obtenu par réduction du silico-molybdate d'ammonium initialement formé. Il semble malheureusement, notent CHARLOT et BEZIER (18), que l'on perd ainsi en sélectivité ce que l'on gagne en sensibilité.

Pour effectuer la réduction du complexe molybdique, des réactifs très variés ont été proposés. Le tableau suivant en donne un aperçu :

REDUCTION DU COMPLEXE SILICO-MOLYBDIQUE

(Principaux réactifs employés, cités dans l'ordre chronologique)

Années	Auteurs	Référence n°	Réactifs employés
1924	ISAACS	(51)	Sulfite de sodium
1929	OBERHAUSER & SCHORMULLER	(90)	Chlorure stanneux
1930	KING	(57)	Hydroquinone et sulfite de sodium.
1933	PARRI & SCOTTI	(92)	Chlorhydrate d'hydroxylamine et hydrosulfite de sodium.
1933	KING & STANTIAL	(61)	Acide 1-2-4- amino-naphtol sulfonique.
1936	DEEDS & EDDY	(24)	Para-hydroxy-phénylglyco- -colle.
1939	BODNAR & TOROK	(9)	Hydroquinone et sulfite de sodium.
1939	THIEL	(II3)	Hydrosulfite de sodium en solution ammoniacale.
1941	VISINTIN & GANDOLFO	(II7)	Hydroquinone et sulfite de sodium.
1942	KRAUT & WEBER	(67)	id.
1945	GETTLER & UMBERGER	(37)	id.
1947	BOLTZ & MELLON	(10)	Acide 1-2-4- amino-naphtol- -sulfonique.
1947	LANGE	(71)	- Chlorure stanneux - Hydroquinone - Hydroxylamine - Sulfite de sodium - Thiosulfates.
1949	GOHR & SCHOLL	(40)	Hydroquinone et sulfite de sodium.

Nous allons maintenant exposer très rapidement, sous forme de monographie, les principales méthodes colorimétriques employées pour le dosage du silicium, plus particulièrement dans les substances d'origine biologique.

A - Méthodes évaluant l'intensité de la coloration
jaune du complexe silico-molybdique :

I°) La méthode de DIENERT et WANDENBULCKE (1923) (26)
est une des plus anciennes. Ses auteurs la proposèrent pour le dosage du silicium dans les eaux : " Le molybdate d'ammonium réagit avec les silicates en milieu sulfurique en formant un silico-molybdate complexe de coloration jaune. L'intensité de cette coloration, proportionnelle à la teneur du milieu en silicium, permet un dosage colorimétrique par comparaison de la solution à titrer avec des solutions étalons". Si les phosphates sont présents en quantités susceptibles de gêner, ils sont éliminés à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien; le fer éventuel est précipité sous forme d'hydroxyde ferrique par barbotage d'air.

Nous ne pouvions passer sous silence cette méthode qui a servi de base à plusieurs techniques applicables en biologie. De telles applications nécessitent la transformation de la silice en silicate par une minéralisation alcaline. C'est ce qu'ont fait les auteurs suivants :

2°) KING (1928) (57) reprenant avec quelques modifications la méthode d'ISAACS (5I) (voir page 37) détruit la matière organique par incinération avec l'acide nitrique et le nitrate de magnésium, transforme la silice en silicate par ébullition avec la soude normale, et précipite l'ion phosphorique éventuel à l'état de phosphate ammoniacomagnésien séparable par filtration. Après neutralisation par l'acide sulfurique, l'auteur continue sensiblement comme DIENERT et WANDENBULCKE (26). La coloration du silico-molybdate d'ammonium est évaluée par comparaison à celle d'une solution d'acide picrique servant d'étalon.

Le même auteur a proposé en 1930 de réduire le complexe silico-molybdique en " bleu de molybdène ". Nous en ferons mention plus loin (voir page 38).

3°) VIVARIO et CONHAIRE (1932) (IIB), incinèrent la matière organique, reprennent le résidu par l'acide chlorhydrique, insolubilisent la silice par chauffage avec l'acide perchlorique, l'isolent par filtration et la transforment en silicates solubles par fusion alcaline avec les carbonates de sodium et de potassium. Le produit de minéralisation est repris par l'eau, puis traité, après filtration, par le molybdate d'ammonium en milieu sulfurique. La coloration du complexe silico-molybdique est finalement comparée avec celle d'un étalon préparé à partir d'un silicate alcalin.

4°) La méthode de HURE et Mlle ORTHIS (1949) (49), permet le dosage colorimétrique de traces de silicium en présence de quantités très importantes de phosphates. Elle trouve son point de départ dans

les travaux de SIDERIS (110) et MERVEL (85) relatifs à la solubilité des complexes molybdiques dans les solvants organiques. HURE et Mlle ORTHIS montrent que le phospho-molybdate d'ammonium est soluble à pH 1,2 dans l'acétate d'éthyle alors que le silico-molybdate ne l'est pas. Ce fait est mis à profit de la manière suivante : - Après formation des complexes phospho- et silico-molybdiques, la solution est agitée à plusieurs reprises avec de l'acétate d'éthyle dans une ampoule à décantation. On évalue par rapport à des étalons l'intensité de la coloration jaune résiduelle.

Cette méthode n'a pas été appliquée par ses auteurs au dosage du silicium dans les substances biologiques, mais elle est susceptible de rendre, dans ce cas particulier, de grands services, car beaucoup d'organes ont une teneur en silicium infime par rapport à leur teneur en phosphore; c'est le cas de la substance osseuse, de la substance cérébrale, etc....

B - Méthodes évaluant l'intensité de la coloration

du " Bleu de molybdène " obtenu par réduction

du complexe silico-molybdique :

1°) La méthode d'ISAACS (1923) (51) est une des premières en date : La substance organique est incinérée avec le nitrate de calcium et l'acide nitrique comme adjuvants; la transformation de la silice en silicates est obtenue par ébullition avec une solution de soude. Après filtration et acidification acétique, on ajoute le molybdate d'ammonium. Dans ces conditions, dit l'auteur, le silico-molybdate

se forme seul, la formation du phospho-molybdate est empêchée. Le bleu de molybdène est obtenu grâce au sulfite de sodium. On élimine l'influence gênante du fer, en introduisant cet élément en quantité équivalente dans l'étalon de dosage.

2°) - KING (E.) (1930) (57) modifie la méthode d'ISAACS (51) en éliminant le phosphore par précipitation sous forme de complexe ammoniaco-magnésien.

3°) - PARRI et SCOTTI (1933) (92) minéralisent directement la substance par fusion avec le carbonate acide de sodium, reprennent le résidu par l'acide sulfurique et l'acide nitrique en quantités ménagées. L'addition de molybdate d'ammonium amène la formation des complexes silico- et phospho-molybdiques. L'introduction préalable d'alcool éthylique dans le milieu réactionnel empêche la précipitation éventuelle du phospho-molybdate d'ammonium. Ce dernier est ensuite décomposé par le citrate mono-acide d'ammonium qui supprime en même temps l'influence gênante du fer. La transformation du silico-molybdate en "bleu de molybdène" est obtenue grâce à un couple réducteur : de préférence le chlorhydrate d'hydroxylamine associé à l'hydrosulfite de sodium. Nous reviendrons plus longuement sur cette méthode au cours de la seconde partie de notre travail.

4°) - KING et STANTIAL (1933) (61) incinèrent la substance organique en s'aidant de l'acide nitrique et du nitrate d'ammonium. Dans le résidu la silice est insolubilisée par traitement à l'acide perchlorique bouillant, puis séparée par filtration et fondue avec le carbonate de sodium. Après reprise par l'eau les auteurs effectuent la réaction molybdique et obtiennent le bleu de molybdène en employant

comme réducteur l'acide 1-2-4- amino-naphtol-sulfonique.

KING et STANTIAL proposent dans la même publication un mode opératoire différent et plus rapide : les cendres de la substance sont fondues avec le carbonate de sodium ou portées à l'ébullition avec une solution de soude pour solubiliser la silice; après reprise par l'eau et acidification légère par l'acide sulfurique N (contrôlée par le virage de l'hélianthine), le fer est précipité sous forme de phosphate ferrique et les phosphates sous forme de phosphate tricalcique après retour en milieu ammoniacal. On continue comme précédemment.

5°) - DEEDS et EDDY (1936) (24) partent du même principe (séparation de la silice par insolubilisation grâce à l'acide perchlorique) mais réduisent le complexe silico-molybdique en milieu sulfurique environ 0,075 N, par le parahydroxy-phénylglycocolle.

6°) - BODNAR et TOROK (1939) (9) minéralisent la substance comme PARRI et SCOTTI (92) mais en utilisant le carbonate acide de potassium. Après reprise par l'acide chlorhydrique, le fer éventuellement présent est transformé en un complexe incolore par le cyanure de potassium et l'acide citrique. Les phosphates sont précipités à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien et séparés par filtration. La réduction du complexe silico-molybdique est effectuée par le couple hydroquinone-sulfite de sodium.

7°) - BARLIER (1948) (6) adapte à ses recherches personnelles sur les composés organo-siliciques la méthode de PARRI et SCOTTI (92). La minéralisation directe au bicarbonate de sodium nécessitant une chauffe brutale qui volatiserait partiellement les composés étudiés, l'auteur préfère effectuer une minéralisation nitro-sulfurique, et c'est sur le résidu qu'il effectue la fusion alcaline.

8°) - GOHR et SCHOLL (1949) (40) détruisent la matière organique par une méthode nitro-sulfurique; la silice est insolubilisée par chauffage avec l'acide sulfurique jusqu'à dessiccation, et le résidu est "lavé" à l'acide chlorhydrique dilué pour entraîner les phosphates et le fer, puis fondu avec le sulfate de potassium. La silice est dosée par formation de silico-molybdate d'ammonium et réduction de ce complexe par le couple hydroquinone - sulfite de sodium. Les auteurs ont appliqué cette méthode au sang et à l'urine.

III - LES METHODES VOLUMETRIQUES :

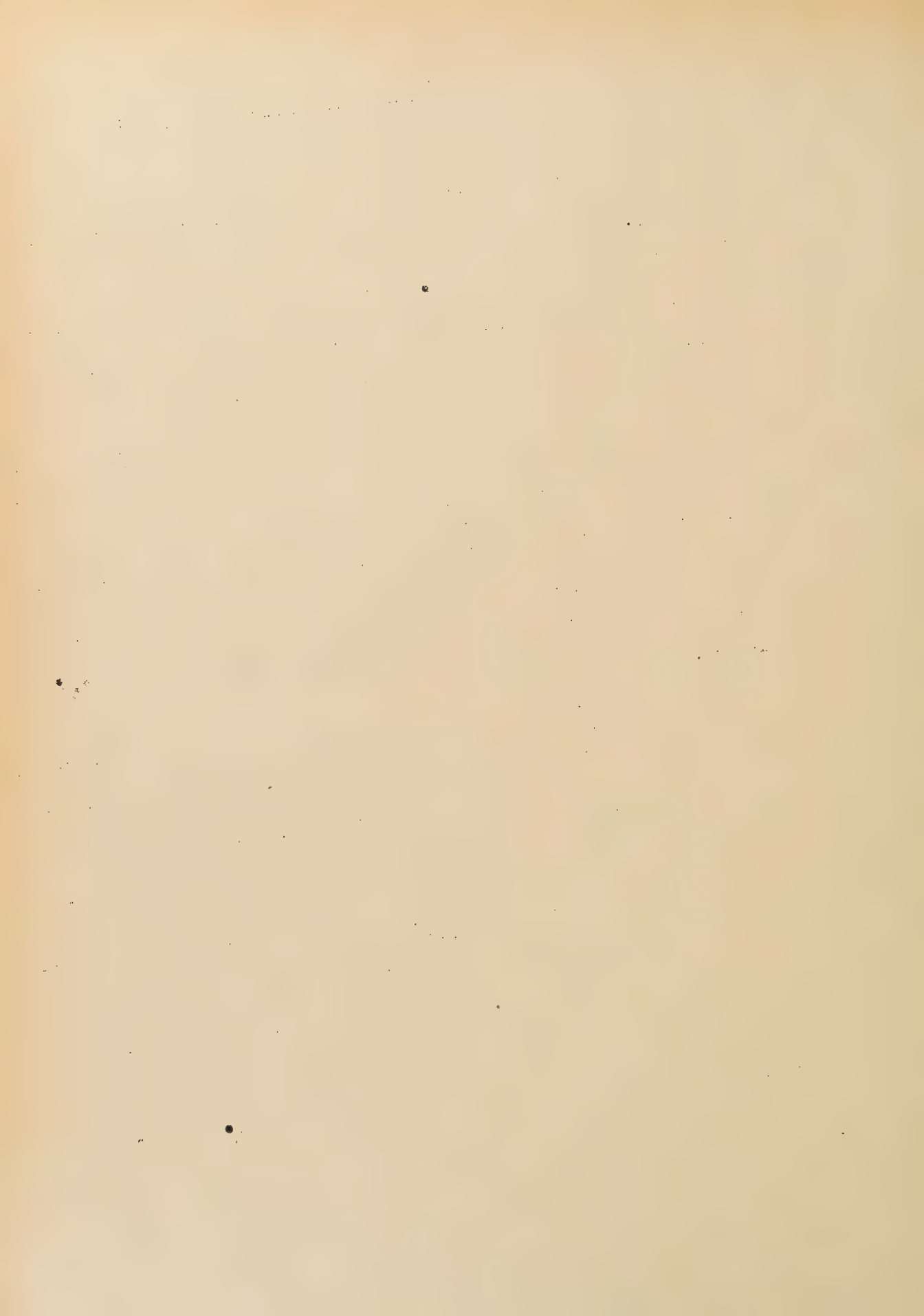
Elles appartiennent toutes à la catégorie des semi-micro-méthodes.

La minéralisation pose sensiblement les mêmes problèmes que dans le cas des macro-méthodes. Quant à la sélectivité, elle est aussi discutable que celle des micro-méthodes.

Presque toutes reposent sur la formation du complexe silico-molybdique : les ions perturbateurs seront donc sensiblement les mêmes que dans les méthodes colorimétriques étudiées ci-dessus. Les techniques sont d'application très délicate ; des filtrations ou centrifugations suivies de lavages, sont nécessaires pour isoler à l'état de pureté le complexe formé : il en résulte une complication notable du mode opératoire.

Ces méthodes ingénieuses, proposées surtout en vue d'applications minéralogiques, ne semblent pas devoir rendre de très grands services pour l'étude du silicium en biologie. Nous nous contenterons d'exposer de façon très schématique les principales d'entre elles.

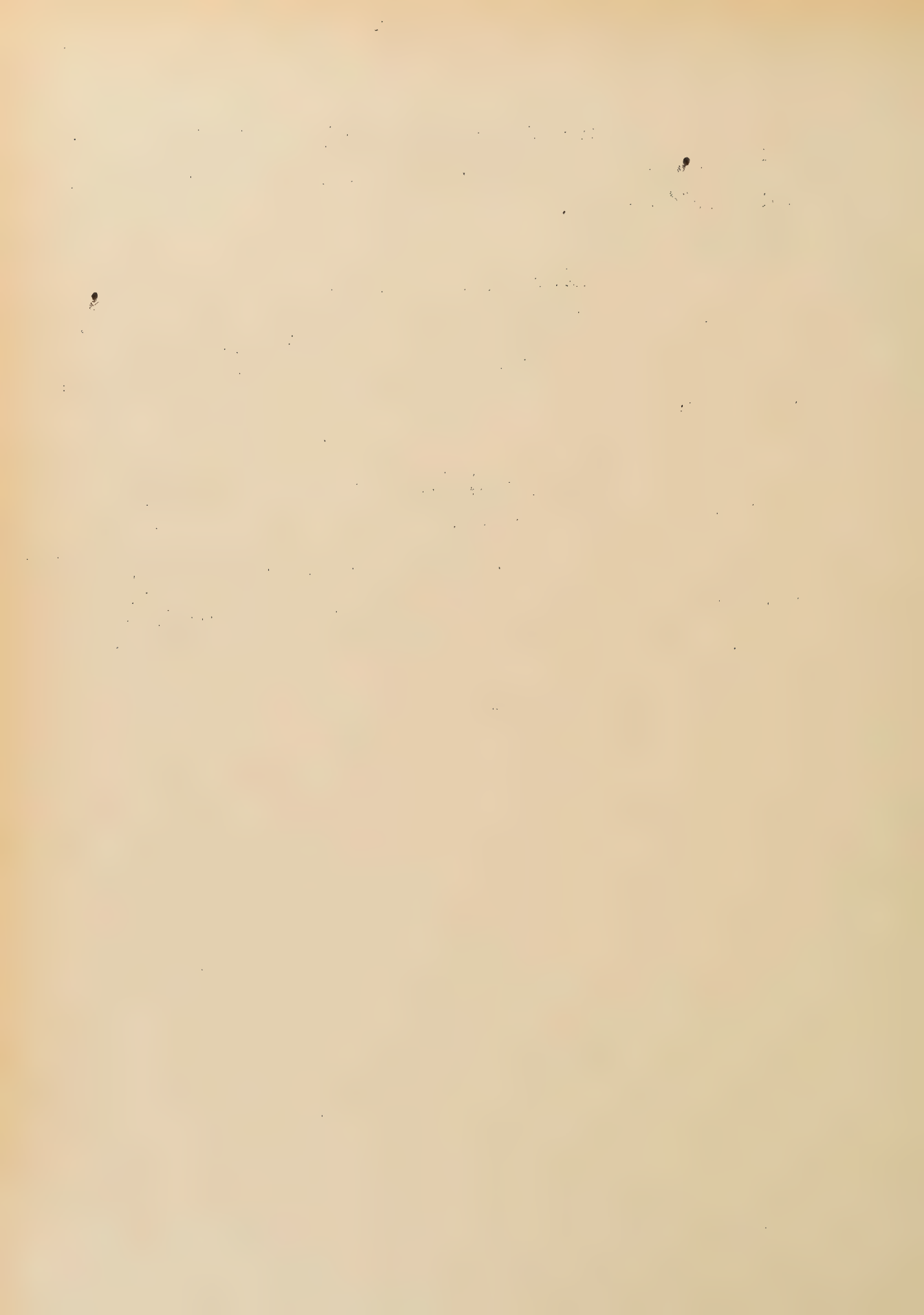
I°) KITAJIMA (1933) (63) engage le silicium dans un complexe molybdique qu'il décompose après séparation par un excès de soude titrée ; la soude non utilisée est dosée par volumétrie. On peut aussi effectuer une réduction du complexe préalablement séparé, et le réoxyder par une solution titrée de permanganate de potassium.



2°) MIKA (1942) (86) précipite le silicium sous forme de silico-molybdate de pyridine, qu'il sépare par filtration et dose ensuite par volumétrie.

3°) DUVAL (1947) (31) précipite le silicium sous forme de silico-molybdate d'hexaméthylène - tétramine. Le précipité est séparé puis hydrolysé et l'on termine par un dosage iodométrique de la base libérée.

4°) WILSON (1949) (120) précipite le silicium à l'état de silico-molybdate de quinoléine, que l'on dissout, après séparation, dans un excès de soude titrée. On dose en retour l'excès d'hydroxyde alcalin, et l'on en déduit la quantité de silicium engagée dans le complexe.



Deuxième partie : TRAVAUX PERSONNELS

Chapitre III

CHOIX et EXPERIMENTATION

D'UNE METHODE DE DOSAGE DU SILICIUM EN BIOLOGIE.

ETUDE CRITIQUE DE LA METHODE DE PARRI ET SCOTTI (92).

La lecture des pages précédentes impose une première remarque : la multiplicité des solutions proposées est une conséquence des difficultés de tous ordres rencontrées par les chercheurs qui se sont attachés au problème du micro-dosage du silicium dans les milieux biologiques. La discordance des chiffres publiés relève probablement de plusieurs causes :

Des résultats trop faibles peuvent s'expliquer par des pertes : Possibles au cours des opérations parfois compliquées visant à isoler la silice, ces dernières le sont plus encore lorsqu'on veut séparer les ions gênants par précipitation; nous en reparlerons plus loin. D'autre part, la transformation de la silice en silicates, seuls capables de réagir avec le molybdate d'ammonium, peut n'avoir pas été totale. Enfin la réaction servant au dosage peut, elle-même, avoir été parfois incomplète en raison de la complexité habituelle du milieu réactionnel.

Inversement, des résultats trop forts sont attribuables à l'influence des éléments gênants susceptibles d'engendrer des colorations parasites.

o o o

Parmi les méthodes colorimétriques décrites au chapitre précédent, nous avons retenu en vue d'une étude plus approfondie celle de PARRI et SCOTTI (92), exposée page 38, qui nous a paru la plus adéquate. Elle nous semblait en effet réunir, mieux que les autres méthodes, certains avantages que nous jugions primordiaux :

I - Grande sensibilité : On peut opérer, selon les auteurs, sur 0,2 ml de liquide biologique et 0,1 à 0,2 g de tissu.

2 - Relative simplicité d'exécution : Ce qui est très souvent, en analyse, un facteur incontestable d'exactitude.

a) La minéralisation directe par le carbonate acide de sodium nous a séduit par sa commodité : Elle est extrêmement rapide, détruit la matière organique en transformant simultanément le silicium en silicate alcalin très soluble, et n'expose à aucune perte. Les procédés qui consistent à détruire d'abord la matière organique, puis à insolubiliser et à isoler la silice avant de la transformer en silicate, ont le mérite d'éliminer les ions étrangers capables de gêner ultérieurement le dosage, mais exposent à des pertes importantes, ainsi que nous l'avons noté à propos des méthodes pondérales (voir pages 23 - 24). Ils ne pourraient d'ailleurs pas être appliqués à des prises d'essai aussi faibles que celles de PARRI et SCOTTI.

b) Les moyens choisis par les auteurs italiens pour résoudre les problèmes posés par la présence des ions gênants méritaient aussi de retenir l'attention.

Une brève expérimentation de la méthode de KING et STANTIAL (61) (voir page 38) nous en a montré les difficultés : Sans parler de la longueur considérable des manipulations qu'elle nécessite, nous avons été convaincu de l'impossibilité de doser correctement le silicium par cette méthode, sur moins de 5 à 10 g de substance.

Quant à l'élimination de l'ion phosphorique par précipitation, sous forme de sel ammoniaco-magnésien par exemple, proposée par certains auteurs (voir tableau page 28), c'est une opération fort longue qui conduit inévitablement à diluer le milieu, au préjudice de la sensibilité de la colorimétrie ultérieure. En outre, il n'est pas entièrement exclu que des traces de phosphates puissent subsister et troubler le dosage des quantités minimales de silicates auxquelles on a affaire. Il semble qu'un tel procédé soit à réserver pour la macro-analyse. Des considérations analogues, basées sur toute une série d'expériences, nous ont conduit à renoncer, pour le micro-dosage, à la séduisante méthode d'élimination des phosphates proposée par HURE et Mlle ORTHIS (49) qui est basée sur l'extraction du phospho-molybdate d'ammonium par l'acétate d'éthyle (voir page 36).

Nous en dirions autant de certaines méthodes d'élimination du fer par précipitation ou par "extraction" à l'aide de solvants organiques (voir tableau page 31).

PARRI et SCOTTI tournent ces difficultés de façon heureuse : ils éliminent la coloration parasite donnée par le phosphore en

décomposant le complexe phospho-molybdique par le citrate mono-acide d'ammonium, sel qui a pour effet, selon eux, d'annuler en même temps l'influence perturbatrice du fer.

La technique des auteurs italiens bénéficie en outre des perfectionnements qu'ils lui ont apportés à la suite de leurs remarques sur l'insuffisance des méthodes d'ISAACS (51) et KING (57) (voir pages 37 - 38) : PARRI et SCOTTI soulignent en particulier l'impossibilité d'obtenir la production " sûre, rapide et complète " du silico-molybdate en milieu acétique, et par conséquent la nécessité d'ajouter au milieu un acide minéral fort.

o o o

Malgré ses avantages évidents " a priori ", qui nous l'ont fait retenir, la technique proposée par PARRI et SCOTTI ne nous a malheureusement pas donné l'entière satisfaction attendue.

De multiples essais pratiqués sur le sérum sanguin et le sang en suivant à la lettre le mode opératoire des auteurs italiens, nous ont conduit non seulement à des résultats très différents de ceux publiés par PARRI et SCOTTI, mais encore à des chiffres présentant entre eux des écarts inadmissibles.

En voici quelques uns, relatifs à la teneur en silicium
(exprimée en mg par litre)

- du même sérum : 17,5 - 49,5 - 36 - 34 - 23.

- du même sang : 22 - 28 - 54 - 11 - 35.

L'interprétation de ces expériences infructueuses et de nombreux autres essais pratiqués dans des conditions variées mais soigneusement définies, nous a conduit à certaines remarques importantes. Les voici présentées d'abord dans l'ordre chronologique. Nous les replacerons plus loin dans l'ordre méthodique, en décrivant les modifications correspondantes de la technique de PARRI et SCOTTI que nous avons été amenés à réaliser.

1°) - Les couples réducteurs proposés par les auteurs italiens pour l'obtention du bleu de molybdène nous ont donné des résultats déplorables : L'hydrosulfite de sodium en particulier, qui entre dans la constitution de tous ces "couples" nous semble mal choisi malgré son intense pouvoir réducteur. Ainsi que l'a fait remarquer CHAMBON (17) la pureté chimique de ce corps est souvent très douteuse, et il est à souligner que la coloration bleue obtenue avec ce réactif, probablement trop brutal, est extrêmement instable. Intense au début, elle décroît en quelques minutes, "à vue d'oeil". CHARNOT (20) qui dose le silicium dans les milieux biologiques par une méthode analogue à celle de PARRI et SCOTTI nous a conseillé d'ajouter dans la cuve de l'électrophotomètre au moment du dosage, une nouvelle quantité d'hydrosulfite de sodium. Nous avons constaté que si la coloration est effectivement intensifiée à la suite de cette opération, il reste néanmoins impossible d'obtenir

une opacité assez stable pour permettre une lecture colorimétrique satisfaisante.

2°) - PARRI et SCOTTI semblent avoir sous estimé l'importance cependant primordiale de l'acidité du milieu réactionnel. Dans la reprise nitro-sulfurique du produit de fusion alcaline, les quantités d'acides ajoutées le sont sans contrôle sérieux, "jusqu'à dissolution complète". Or nous avons rapidement remarqué que les réactions ultérieures utilisées pour le dosage conduisaient à un "bleu de molybdène" d'autant plus intense que l'acidité du milieu réactionnel était plus faible.

BARLIER (6) a d'ailleurs fort bien remarqué cette insuffisance flagrante de la méthode de PARRI et SCOTTI. Il note dans son travail qu'en reprenant le produit de minéralisation comme l'indiquent ces auteurs, "on risque d'ajouter trop d'acide, et d'empêcher par la suite la réduction du silico-molybdate, ce dernier ne donnant pas la teinte bleue après addition d'hydrosulfite de sodium si le milieu est trop acide ".... Mais BARLIER ne codifie pas assez nettement sa manière personnelle d'opérer, et les résultats obtenus en suivant ses conseils, tout en étant meilleurs, demeurent très inconstants.

3°) La précipitation du phospho-molybdate d'ammonium n'a pas toujours pu être empêchée par addition au milieu d'alcool éthylique selon le conseil de PARRI et SCOTTI. Nos essais nous ont montré que la présence d'acide nitrique dans le milieu favorisait cette précipitation. (La réaction classique de recherche qualitative des phosphates se pratique d'ailleurs en milieu nitrique). Nous avons donc proscrit

l'emploi de cet acide et nous avons utilisé l'acide sulfurique seul au lieu du mélange sulfo-nitrique pour dissoudre le produit de minéralisation : même en l'absence d'alcool, aucune précipitation ne s'est dès lors produite après l'addition du molybdate d'ammonium. Nous avons aussitôt retenu ce résultat pour le mettre à profit.

4°) - La technique de PARRI et SCOTTI, appliquée au sang, nous a donné une coloration finale bleu-verdâtre difficilement comparable à l'étalon. Ce phénomène est probablement à rapporter à la présence d'importantes quantités de fer dans le milieu analysé.

5°) - La solution étalon proposée par PARRI et SCOTTI (obtenue par fusion de la silice pure en poudre avec le carbonate acide de sodium, reprise par l'eau, addition de molybdate d'ammonium et acidification nitrique) nous a causé bien des déboires : Elle garde mal son titre; sa coloration jaune (silico-molybdate d'ammonium) est sujette à des variations importantes et imprévisibles : nous avons souvent observé après un temps variant de quelques jours à quelques semaines une diminution de son intensité ou un changement de sa nuance. Un dépôt jaunâtre et adhérent se forme parfois sur les parois du flacon. Ajoutons que l'acidité de cet étalon est incertaine; critique secondaire, nous l'admettons, puisque cette solution ne s'utilise qu'après une importante dilution.

6°) - En raison de l'imprécision de l'acidité du milieu réactionnel et des perturbations considérables qui en résultent, nous

n'avons pas pu juger de l'efficacité réelle du citrate mono-acide d'ammonium comme "inhibiteur" de la réaction de l'ion phosphorique. Il nous a cependant semblé dès nos premières expériences qu'elle était moins bonne lorsque le milieu était fortement acide.

o o o

En résumé,

si la méthode de dosage proposée par PARRI et SCOTTI apparaît " a priori " comme une des moins mauvaises, de nombreux points de la technique restent critiquables et une étude systématique de chacun des temps du dosage s'avère indispensable.

Chapitre IV

ETUDE SYSTEMATIQUE DES FACTEURS PHYSICO-CHIMIQUES

INTERVENANT DANS LA FORMATION ET LA REDUCTION

DU COMPLEXE SILICO-MOLYBDIQUE.

INFLUENCE PERTUBATRICE DE CERTAINS IONS : MOYENS DE L'EVITER.

L'exceptionnelle longueur des essais relatés dans ce chapitre, vient de ce que l'application correcte de la classique " méthode des variations indépendantes " à une réaction qui comporte plusieurs paramètres, a nécessité de multiples essais au cours desquels notre seul souci a été de ne faire vraiment varier qu'un facteur à la fois. Mais ceux qui interviennent simultanément étant fort nombreux, une fois fixé l'un d'entre eux, il convenait de reprendre patiemment l'étude de chacun des autres pour espérer aboutir à des conclusions fermes.

Fort heureusement, les quelques essais relatés au chapitre précédent nous ont assez vite orienté quant au choix initial de certains réactifs : Outre qu'ils nous montraient la nécessité d'utiliser l'acide sulfurique seul pour acidifier le milieu réactionnel,

ils suggéraient l'emploi d'un réducteur moins brutal que l'hydrosulfite de sodium et donnant des résultats constants et comparables entre eux d'un essai à un autre. Sans relater toutes nos tentatives, guidées par la liste des réactifs donnée au tableau figurant page 34, disons que nous avons pu fixer notre choix sans trop de difficultés sur le sulfite neutre de sodium employé seul, sous forme d'une solution à 20 p. 100 de sel anhydre. Ce réactif est stable pendant plusieurs mois et donne d'excellents résultats, si l'on opère dans des conditions d'acidité ionique bien déterminées.

Ces points établis, une remarque s'imposait (déjà notée page 27). Parmi les ions gênants, il convient de faire une place spéciale de l'ion phosphorique :

- Il est constamment présent, en importantes quantités, dans les milieux biologiques.

- Il participe à la réaction chimique mise en oeuvre pour doser le silicium par colorimétrie, - et l'intensité de la coloration parasite qu'il apporte est par conséquent influencée par les mêmes facteurs que cette réaction.

- Les citrates, auxquels nous voulions faire appel, conformément à la technique de PARRI et SCOTTI, pour empêcher l'interférence de l'ion phosphorique agissent dans une certaine mesure sur la réaction du silicium. Cette action secondaire de l'ion citrique sera étudiée plus loin (voir page 60) en même temps que les divers facteurs susceptibles d'intervenir dans la réaction colorimétrique du silicium.

Dans un premier temps de nos recherches, nous avons décidé d'étudier sur les seuls ions silicique et phosphorique, et à la température constante de + 20° C, l'influence primordiale du facteur " acidité ".

Ces ions étaient apportés :

a) par des solutions titrées de silicium, renfermant 10 et 100 mg de cet élément par litre, et provenant de la dilution d'une solution de silicate de sodium pur (°) préalablement titrée par voie pondérale. (Cette préparation sera décrite ultérieurement, page 85).

b) par des solutions titrées de phosphore, renfermant 10 et 100 mg de cet élément par litre, et provenant de la dilution d'une solution mère (°°) établie à partir du phosphate monopotassique pur (pour analyses) (°) par pesée exacte.

Délaissant pour un temps la technique de PARRI et SCOTTI puisque nous opérons sur des solutions pures, nous nous sommes adressé, pour obtenir les complexes silico- et phospho-molybdique au mode opératoire très simple proposé par DIENERT et WANDENBULCKE pour le dosage du silicium dans les eaux.

Dans un second temps nous avons étudié la décomposition du complexe phospho-molybdique par les citrates (citrate mono-acide d'ammonium et citrate neutre de sodium) et l'influence secondaire de ces sels sur le complexe silico-molybdique.

(°) Produit " Prolabo ".

(°°) Cette " solution mère " renferme 4,394 g. de phosphate monopotassique pur par litre - 1 mg de cette solution correspond à 1 mg de P.

- Puis nous avons examiné l'influence de la température sur la formation et la réduction des complexes silico- et phospho- molybdi-ques.

- Les conclusions auxquelles nous ont conduit ces recherches nous ont permis de fixer un mode opératoire et d'étudier l'influence perturbatrice éventuelle des divers éléments sur la réaction (désormais bien définie) mise en oeuvre pour doser le silicium par colorimétrie.

I - Influence de l'acidité du milieu réactionnel

(à la température uniforme de + 20°C)

I° - Sur la réaction de l'ion silicique :

Appliquant à des quantités croissantes d'ions siliciques contenues dans le même volume (10ml), la technique proposée par DIENERT et WANDENBULCKE (26) (addition de molybdate d'ammonium suivie d'une acidification sulfurique (°) à la faveur de laquelle le silico- molybdate

(°) Nous avons utilisé une solution d'acide sulfurique 4 N préparée à partir de l'acide sulfurique pur pour toxicologie (densité 1,84) livré par "Prolabo".

d'ammonium jaune prend naissance), nous avons fait les observations suivantes :

a) Lorsque la quantité de silicium est inférieure à 30 microgrammes dans la prise d'essai, l'évaluation de l'intensité de la coloration jaune obtenue ne saurait permettre un dosage précis, même à l'aide de l'électro-photomètre de MEUNIER utilisé avec l'écran bleu (permettant une absorption maximum au voisinage de 430 millimicrons).

b) Le pH 1,2 est nécessaire et suffisant pour permettre la formation complète du silico-molybdate. Au pH 1,5 - 1,7 indiqué par CHARLOT et GAUGUIN (19), nous avons observé un développement lent et incomplet de la coloration jaune.

c) La réduction ultérieure du complexe par le sulfite neutre de sodium donne naissance à une coloration bleue dont l'intensité (observée après 1 heure à l'aide de l'électro-photomètre de MEUNIER utilisé avec l'écran rouge permettant un maximum d'absorption au voisinage de 700 millimicrons) est d'autant plus forte que l'acidité du milieu est plus faible.

2° - Sur la réaction de l'ion phosphorique.

En ce qui concerne l'ion phosphorique, nous avons observé exactement l'inverse. La formation du phospho-molybdate d'ammonium a lieu de manière plus satisfaisante à des pH inférieurs à 1. Elle est complète au bout de 30 minutes à pH 1, pour des quantités de phosphore ne dépassant pas 0,05 mg dans un volume réactionnel de 10 ml. A pH 0

(milieu d'acidité ionique normale) elle est complète au bout de 10 minutes. Pour des quantités plus grandes d'ion phosphorique, la formation du phospho-molybdate d'ammonium demeure incomplète à pH 1; une acidité ionique plus forte est nécessaire : pH 0 à 0,5. Bien qu'en milieu sulfurique, on observe d'ailleurs, pour des quantités de phosphore de l'ordre du mg (le volume du milieu réactionnel demeurant le même) la précipitation presque constante du phospho-molybdate d'ammonium (°).

Quant à la réduction du complexe en " bleu de molybdène", elle est, entre certaines limites, d'autant plus rapide et complète que l'acidité au milieu réactionnel est plus forte.

3° - Sur la réaction des ions silicique et phosphorique associés :

Si le milieu contient à la fois les ions silicique et phosphorique, on assiste à la "composition" des phénomènes notés ci-dessus : pour des quantités équimoléculaires, l'action perturbatrice de l'ion phosphorique sur le dosage de l'ion silicique est évidemment d'autant plus accentuée, que le pH est plus faible. Il est d'ailleurs à remarquer que si l'on amène ce dernier au dessous de 1, on se rapproche des conditions d'acidité du milieu réactionnel réalisées lorsque l'on veut doser l'ion phosphorique par colorimétrie du bleu de

(°) La précipitation du complexe s'observe de manière régulière même pour de faibles quantités de phosphore (0,2 mg) si l'on acidifie le milieu par l'acide nitrique au lieu de l'acide sulfurique.

molybdène selon la technique de BELL et DOISY (8) modifiée par BRIGGS (14), MARTLAND et ROBISON (82). Ces conditions favorisent la réaction du phosphore aux dépens de celle du silicium.

En résumé :

Pour doser le silicium en présence du phosphore par colorimétrie du bleu de molybdène, il convient d'opérer en milieu d'acidité suffisante pour permettre la formation quantitative du complexe silico-molybdique, mais aussi faible que possible afin de gêner au maximum la réduction du phospho-molybdate d'ammonium.

Cette acidité doit être rigoureusement définie. Au cours d'un dosage, elle doit être identique pour le milieu de teneur inconnue en silicium, et pour un ou plusieurs étalons dont la nécessité apparaît dès à présent comme évidente.

II - Décomposition du phospho-molybdate d'ammonium
par les citrates - Action secondaire de l'ion citrique
sur le silico-molybdate d'ammonium :

I° - Décomposition du phospho-molybdate d'ammonium :

Toujours à la température de + 20 ° C, nous avons fait

agir le citrate mono-acide d'ammonium et le citrate neutre de sodium (°) sur le complexe molybdique (obtenu à pH voisin de 1,2) correspondant à des quantités croissantes de phosphore (0,01 à 1 mg) en solution dans un volume de 10 ml.

Nous avons réduit en bleu de molybdène la partie du phospho-molybdate d'ammonium non encore décomposée après des temps variant de 2 à 10 minutes. La lecture colorimétrique a été faite après 1 heure, au moyen de l'électrophotomètre de MEUNIER, utilisé avec l'écran rouge (absorption maximum au voisinage de 700 millimicrons).

Nous avons fait les constatations suivantes :

a) La décomposition du complexe phospho-molybdique est complète après 3 minutes (ce dont témoigne l'absence de bleu de molybdène après réduction par le sulfite de sodium) pour des quantités de phosphore allant jusqu'à 0,5 mg si l'on emploie le citrate trisodique et jusqu'à 0,25 mg si l'on utilise le citrate mono-acide d'ammonium.

b) Que dans le cas où le phospho-molybdate d'ammonium n'est pas entièrement décomposé, la réduction par le sulfite de sodium du complexe résiduel conduit à un bleu de molybdène plus intense lorsqu'on a employé le citrate mono-acide d'ammonium.

c) Que les deux citrates agissent d'autant moins bien

(°) PARRI et SCOTTI (92) utilisent le citrate mono-acide d'ammonium ("bi-ammonique"), dont ils indiquent un mode de préparation (voir page 60, en note) et secondairement le citrate trisodique. Nous avons expérimenté ces deux sels, car à la suite de l'étude qui précède, le second nous a paru préférable en raison de sa neutralité.

que l'acidité ionique des solutions phospho-molybdiques est plus forte. Ce qui nous explique l'infériorité (notée dans les lignes qui précèdent) de l'action décomposante du citrate mono-acide d'ammonium par rapport à celle du citrate neutre de sodium (°). Ce dernier n'apporte pas en effet de fonctions acides libres.

2°) Action des ions citriques sur le silico-molybdate
d'ammonium :

Nous avons fait agir le citrate mono-acide d'ammonium et le citrate neutre de sodium sur le complexe molybdique (obtenu à pH voisin de 1,2) correspondant à 0,05 mg de silicium en solution dans un volume de 10 ml. Après 10 minutes, nous avons provoqué la réduction du complexe en bleu de molybdène. Nous avons traité parallèlement un témoin contenant la même quantité de silico-molybdate, mais non additionné de citrate.

(°) PARRI et SCOTTI indiquent pour la préparation de leur " solution de citrate bi-ammonique" le mode opératoire suivant :

"On fait dissoudre à froid 20 g d'acide citrique cristallisé dans 10 ml d'ammoniaque concentrée, additionnée de 10 ml d'eau distillée. La solution contient environ 7 g de citrate bi-ammonique dans 10 ml de liquide ".

Or on peut aisément calculer que ce réactif, préparé avec la solution officinale d'ammoniaque (titrant 20 p. 100 de son poids en gaz ammoniac, et habituellement désignée sous le nom d'ammoniaque concentrée) correspond sensiblement à une solution de citrate "mono-ammonique". Son acidité est par conséquent notable.

Nous avons d'ailleurs vérifié que l'acide citrique présente, à un degré supérieur encore, le même inconvénient que le citrate mono-acide d'ammonium.

Nous avons observé :

a) Que la coloration bleue obtenue est moins intense dans l'essai additionné de citrate mono-acide d'ammonium que dans celui additionné de citrate neutre de sodium, cela tient sans doute encore à l'acidité apportée par le premier des deux sels.

b) Que les deux citrates décomposent notablement le silico-molybdate d'ammonium.

La possibilité d'employer les citrates pour supprimer la coloration parasite due à l'ion phosphorique repose donc, en fait, sur la différence des vitesses de décomposition des complexes silico- et phospho-molybdiques, celle du premier étant de beaucoup la plus lente.

La "durée d'action des citrates", qui peut être mesurée par l'intervalle de temps séparant leur addition au milieu, de l'introduction du sulfite neutre de sodium, doit par conséquent jouer un rôle important. Nous l'avons mis en évidence dans le cas du citrate trisodique.

Influence du citrate neutre de sodium sur le complexe silico-molybdique, en fonction du temps :

Dans une série de tubes à essais, nous avons fait agir le citrate neutre de sodium sur le complexe silico-molybdique (obtenu à pH voisin de 1,2) correspondant à 0,05 mg de silicium en solution dans un volume final de 10 ml. Puis nous avons provoqué, au terme d'un délai variant de 5 minutes à 6 heures suivant les tubes, la réduction du silico-molybdate d'ammonium par le sulfite neutre de sodium.

10 minutes, 60 minutes et 6 heures après l'introduction de ce dernier, nous avons évalué l'intensité du bleu de molybdène apparu. Nos résultats sont représentés par les graphiques réunis dans la figure suivante :

FIGURE

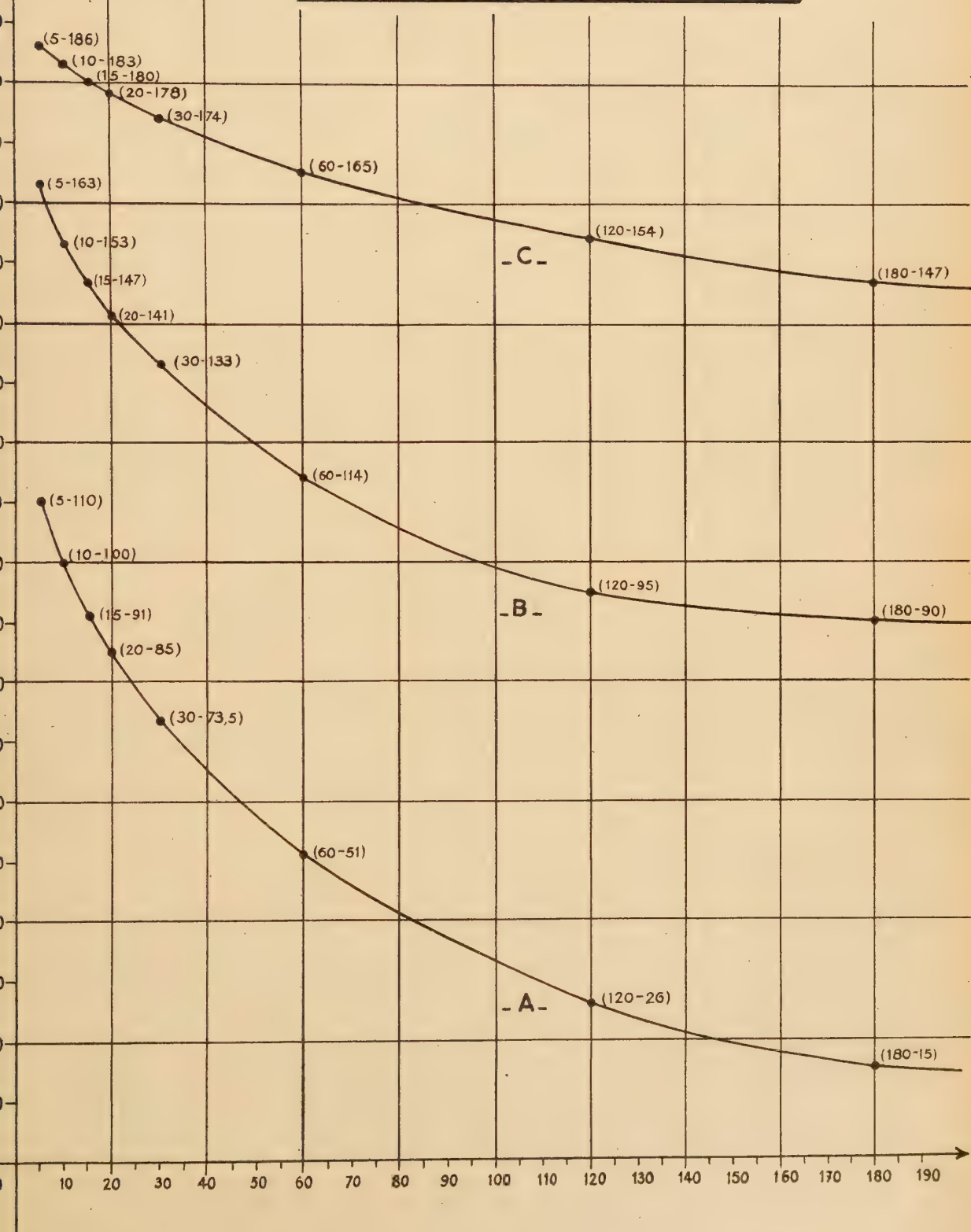
(H-rs - Texte)

Légende de la figure ci-contre

- Abscisses : Durée d'action du citrate neutre de sodium exprimée en minutes.
- Ordonnées : Opacité de la coloration du " bleu de molybdène " résultant de l'action du sulfite neutre de sodium sur le complexe silico-molybdique non décomposé par le citrate neutre de sodium. Nous avons porté sur l'axe les divisions du tambour de l'électrophotomètre de MEUNIER, utilisé avec l'écran rouge (permettant une absorption maximum au voisinage de 700 millimicrons), la cuve de 1 cm, et le diaphragme de 5 mm.

Les courbes A, B, C, correspondent à des lectures faites respectivement 10 minutes, 60 minutes, 6 heures, après l'addition de sulfite neutre de sodium.

Influence de la durée d'action
du citrate neutre de sodium
sur le complexe silico-molybdique



Interprétation :

De l'examen de ces graphiques, il ressort :

a) Que le citrate trisodique amène une décomposition notable du complexe silico-molybdique (fait déjà noté plus haut).

b) Que l'addition de sulfite neutre de sodium fait réapparaître très lentement sous forme de bleu de molybdène le silico-molybdate d'ammonium décomposé par le citrate : si la lecture photométrique est faite 6 heures après l'introduction du réducteur dans le milieu, l'influence de la durée d'action du citrate est beaucoup moins sensible, ainsi qu'en témoigne la courbe représentative C, beaucoup moins "descendante" que la courbe A.

En résumé :

- L'emploi des citrates pour décomposer le complexe phospho-molybdique donne satisfaction, même dans le cas d'importantes quantités d'ions phosphoriques.

.. Le citrate trisodique est préférable au citrate mono-acide d'ammonium, parce qu'il n'ajoute pas comme celui-ci son acidité propre, à celle du milieu réactionnel. La fixation judicieuse de cette dernière, combinée à l'emploi du citrate neutre de sodium permettra le dosage colorimétrique des silicates, en présence de quantités très supérieures de phosphates.

- La durée d'action du citrate trisodique devra être fixée avec rigueur (°) : trois minutes suffisent, d'après nos expériences; une durée supérieure serait nuisible. Il faudra en tous cas, au cours d'un dosage, traiter de façon rigoureusement identique le milieu de teneur inconnue en silicium et les étalons de dosage.

III - Influence de la température

La température du milieu réactionnel joue un rôle important : Si l'on opère, toutes les autres conditions restant identiques, à + 4° C (glacière), + 20° C et + 37 ° C (étuve), on constate que la vitesse de formation des complexes phospho- et silico-molybdiques ainsi que leur vitesse de réduction en bleu de molybdène croissent avec la température. D'autre part, l'influence gênante de l'ion phosphorique est d'autant plus accentuée que la température du milieu réactionnel est plus élevée. (Notons qu'à partir de + 70°C on observe une " auto-réduction " partielle des complexes molybdiques).

(°) Si ce facteur était par hasard négligé, les courbes de la figure ci-dessus montrent que l'on pourrait remédier dans une certaine mesure à cette faute, en faisant les lectures électro-photométriques quelques heures après l'addition du sulfite neutre de sodium.

Il est donc impossible d'utiliser pour le dosage colorimétrique du silicium des courbes d'étalonnage établies une fois pour toutes; pas plus d'ailleurs que des étalons constitués par des solutions minérales colorées comme ceux proposés par KING et LUCAS (60), SWANK et MELLON (111) etc.... Il convient d'établir avec chaque dosage un ou plusieurs "témoins", en partant de solutions étalons de titre connu en silicium, dont la préparation sera décrite plus loin (voir page 85).

IV - Influence perturbatrice de divers éléments -

I°) Arsenic :

La présence de cet élément ne peut en aucun cas perturber le dosage du silicium dans les milieux biologiques, puisqu'il n'y figure qu'à des doses extrêmement faibles (inférieures à 1 mg par kilogramme). Sa présence a cependant parfois posé un problème aux auteurs qui dosent par colorimétrie le silicium dans les eaux ou les minerais. Il était donc intéressant de savoir s'il risquait de perturber le dosage du silicium lorsque la réaction colorimétrique est effectuée en prenant les précautions inspirées par les précédentes recherches (acidité optimum, adjonction de citrate trisodique, etc....). Nous avons constaté que dans ces conditions, l'arsenic, même en quantité très importantes (de l'ordre de 1 à 5 mg dans la prise d'essai), ne produit aucune coloration parasite. Il n'est donc pas nécessaire de prévoir son élimination.

2°) F e r :

En ajoutant à des solutions convenablement diluées des sels ferreux et ferriques, exemptes de silicium, les réactifs utilisés précédemment, nous avons fait les constatations suivantes:

1 - En présence de fer ferreux, en milieu neutre, l'addition de molybdate d'ammonium est suivie de l'apparition immédiate d'une coloration brune, le liquide restant limpide.

2 - En milieu acide ($H_2 SO_4$) de pH I, le fer ferreux réduit le molybdate d'ammonium en bleu de molybdène.

3 - En présence de fer ferrique (en milieu faiblement acide par suite de la dissociation du sel ferrique) le molybdate d'ammonium provoque l'apparition d'un louche blanchâtre.

4 - En milieu acide ($H_2 SO_4$) de pH I, le molybdate d'ammonium, ajouté à la solution du sel ferrique ne donne lieu à rien de particulier, mais l'addition ultérieure de sulfite neutre de sodium provoque l'apparition d'une coloration brune, le liquide restant limpide.

5 - Dans les mêmes conditions, l'addition de citrate neutre de sodium après celle du molybdate d'ammonium conduit à une coloration jaune vif, qui subsiste après l'introduction du sulfite neutre de sodium.

6 - Si les ions silicique et ferrique sont mélangés, on obtient une coloration verdâtre par " composition " des couleurs bleue et jaune.

En conclusion, l'élimination du fer est rigoureusement nécessaire car cet élément donne lieu à des colorations gênantes, même si l'on emploie le citrate neutre de sodium pour décomposer le phospho-molybdate d'ammonium.

Nous n'avons pas pu éliminer le fer de manière satisfaisante par la méthode indiquée par DIENERT et WANDENBULCKE (26) (barbotage d'air et filtration pour éliminer le précipité d'hydroxyde ferrique formé). Les autres méthodes proposées (dont nous avons donné les principes dans un précédent tableau : voir page 31) compliquent beaucoup le mode opératoire en introduisant dans le milieu un supplément de réactifs. Nous avons préféré mettre à profit l'insolubilité du carbonate et de l'hydroxyde ferrique; procédé tout indiqué puisque la technique de dosage du silicium dans les milieux biologiques que nous espérons mettre au point comportait une minéralisation par fusion alcaline "carbonatée" conduisant d'emblée à ces composés insolubles.

Lorsqu'une solution contient le fer à l'état de sel ferrique, il suffit d'ajouter au milieu quelques gouttes d'eau oxygénée officinale (vérifiée exempte de silicium par l'application de la méthode que nous décrirons ultérieurement) dont l'excès sera décomposé après 5 minutes par une ébullition d'un quart d'heure en présence d'une petite quantité de bi-oxyde de manganèse. Après filtration, on ajoute du carbonate neutre de sodium en léger excès. Un mélange de carbonate et surtout d'hydroxyde ferrique précipite. Par centrifugation, on obtient un liquide exempt de fer et dont la très faible teneur en carbonate de sodium ne nuit pas aux opérations ultérieures. On pourra d'ailleurs éliminer

ce dernier sel par la méthode qui sera décrite plus loin à propos du dosage colorimétrique du silicium dans les eaux (voir page 72).

3°) Fluor :

Cet élément étant présent en importantes quantités dans le tissu osseux, il était nécessaire d'en étudier l'influence sur la réaction du silicium pratiquée dans les conditions suggérées par notre précédente étude et codifiées plus loin.

Nous avons constaté que des doses de fluor (sous forme de fluorure de sodium) inférieures à 0,005 g par litre (prise d'essai = 5 ml) ne gênent pas sensiblement la formation du silico-molybdate d'ammonium. Lorsque le milieu renferme des quantités plus importantes de fluor, il conviendra d'éliminer son influence en utilisant les procédés notés plus haut (voir page 32).

Chapitre V

APPLICATIONS HYDROLOGIQUES

DOSAGE COLORIMETRIQUE DE LA SILICE (°)

DANS LES EAUX MINÉRALES OU ALIMENTAIRES

Sans nous permettre encore d'opérer sur les milieux biologiques, les résultats exposés dans le chapitre précédent nous autorisent à présenter une méthode de dosage de la silice dans les eaux, qui pourrait être facilement appliquée à de nombreux cas particuliers, spécialement dans l'industrie : eaux des générateurs à vapeur, etc...). Nous avons jugé plus démonstratif pour le contrôle de sa valeur (et par conséquent des recherches sur lesquelles elle s'appuie) de l'appliquer à quelques eaux minérales naturelles, dont la teneur en silice est déjà connue grâce à des analyses pondérales pratiquées sur des volumes importants.

Il est classique de distinguer dans les eaux :

I - la silice présente à l'état de silicates ou d'acide silicique dissous (silice non colloïdale);

2 - la silice présente à l'état colloïdal.

(°) Voir remarque page I4.

Mais les travaux récents (ROY (IO5)) semblent avoir établi que sauf dans le cas assez particulier de certaines eaux résiduaires de l'industrie, il n'existe pas de silice " colloïdale " dans les eaux, mais uniquement des silicates et de l'acide silicique en solution vraie.

Ce point présente pour nous une réelle importance, car la silice colloïdale ne participe pas aux réactions colorimétriques. Pour donner à notre méthode une plus grande généralité, et permettre son application dans tous les cas, y compris celui des eaux industrielles, nous avons adopté, pour transformer cette silice colloïdale en silicates, le procédé de DIENERT et WANDENBULCKE (26) fondé sur l'ébullition de l'eau en présence de carbonate acide de sodium, procédé simple qui convient parfaitement dans ce cas (voir page 76).

o o o

Dosage de la silice dans les eaux minérales
ou l'eau d'alimentation :

I - Réactifs

- I - Solution de molybdate d'ammonium pur (°) à 10 p. 100
(10 g pour 100ml) (Durée de conservation 10 jours).
- 2 - Solution de sulfite neutre de sodium (°) à 20 p. 100
(Durée de conservation 1 mois).
- 3 - Solution de citrate trisodique pur (pour analyses) (°)
à 50 p. 100.

- 4 - Solution d'acide sulfurique officinal à 5 p. 100 en volumes (environ 1,84 N).
- 5 - Solution d'acide sulfurique officinal à 2 p. 100 en volumes (environ 1,84 N).
- 6 - Solution d'eau oxygénée à 50 volumes
(préparée extemporanément à partir du soluté concentré d'eau oxygénée du Codex).
- 7 - Bi-oxyde de manganèse pur (°) en poudre très fine.
- 8 - Carbonate acide de sodium pur (°), vérifié exempt de silicium.
- 9 - Brome pur.
- 10 - Sulfate d'aluminium pur (pour analyses) (°)
- 11 - Solution étalon de silicium, correspondant à 10 mg de silicium par litre (°°) (voir sa préparation page 85).

(°) Produit " Prolabo ".

(°°) La solution étalon de silicium dont nous nous sommes servi, fut mise au point dans le cadre des recherches décrites au chapitre suivant. Nous exposerons donc plus loin son mode de préparation en même temps que les raisons qui nous l'ont fait adopter.

Toutes les solutions seront faites avec de l'eau bidistillée préparée depuis moins d'un mois et conservée dans des flacons de verre pyrex de la meilleure qualité, ou mieux dans des récipients d'aluminium pur ou de matière plastique inattaquable.

Elles seront conservées elles-même comme l'eau bidistillée qui a servi à leur préparation.

II - Mode opératoire

A - Traitements préliminaires de l'eau :

I) Cas des eaux alcalines ou contenant des substances susceptibles de fonctionner comme " tampons " :

Si l'eau à analyser contient plus de 5g par litre de carbonates neutres ou acides (exprimés en $\text{CO}_3 \text{Na}_2$), déterminer sur une prise d'essai convenable la quantité d'acide sulfurique à 2 p. 100 nécessaire pour obtenir la neutralité en présence d'hélianthine. Tenir compte du résultat pour neutraliser exactement, sans addition d'indicateur, l'eau sur laquelle sera pratiqué le dosage.

2) Cas des eaux ferrugineuses :

Dans un bécher en pyrex, ajouter à 50 ml d'eau huit gouttes d'eau oxygénée à 50 volumes. Mélanger, puis ajouter après 5 minutes 1g de bi-oxyde de manganèse. Porter à l'ébullition pendant 10 minutes. Refroidir. Transvaser dans un ballon jaugé de 100 ml avec

les eaux de lavage du vase. Ajouter 0,25 g de carbonate de sodium anhydre et compléter au trait de jauge. Filtrer; doser la silice dans le filtrat (qui correspond à l'eau diluée au demi) après l'avoir neutralisé comme nous l'avons indiqué au paragraphe précédent.

3) Cas des eaux sulfureuses :

Les traiter par le brome jusqu'à coloration persistante, selon la technique de DIENERT et WANDENBULCKE (26). Chasser l'excès de brome par un barbotage d'air filtré par passage sur un mélange granulé de chlorure de calcium anhydre et de chaux vive, légèrement tassé dans un tube en U entre deux tampons de coton.

4) Cas des eaux fluorées :

Leur ajouter du sulfate d'aluminium pur à la dose de 0,5 g pour 100 ml.

Remarque :

Les eaux riches en phosphates n'ont à subir aucun traitement préalable puisque la méthode décrite ci-dessus leur est précisément destinée. Toutefois l'addition du citrate trisodique ne sera pas nécessaire dans le cas des eaux renfermant moins de 3 mg par litre de phosphore sous forme d'ion phosphorique.

B - Dosage de la silice " non colloïdale " :

Prendre cinq tubes à essais (°) numérotés (1, 2, 3, 4, 5).

Dans le tube 1 introduire 5 ml d'eau à analyser (diluée au besoin au cinquième ou au dixième suivant la teneur présumée en silicium) et 1 ml d'eau bidistillée.

Dans les tubes 2, 3, 4, introduire respectivement 2, 4, 6 ml de solution étalon de silicium à 10 mg par litre. Compléter 2 et 3 à 6 ml avec de l'eau bidistillée.

Dans le tube 5, introduire 6 ml d'eau bidistillée. Ce tube servira de témoin " à blanc ".

Introduire dans tous les tubes, toujours dans le même ordre, pour que la durée d'action des réactifs soit la même partout :

- 1 ml de la solution de molybdate d'ammonium; mélanger.

- 1 ml (très exactement mesuré) de la solution à 5 p. 100 d'acide sulfurique. Mélanger et attendre 5 minutes.

Ajouter ensuite 1 ml de solution de citrate trisodique; mélanger et attendre 3 minutes.

Introduire enfin 1 ml de solution de sulfite de sodium; mélanger.

(°) Toute la verrerie sera lavée avec l'eau bidistillée dont nous avons indiqué plus haut (voir page 72) les caractères et le mode de conservation.
Cette eau bidistillée sera d'ailleurs seule utilisée au cours du dosage.

Faire la lecture électro-photométrique après 30 minutes, dans une cuve de 1 cm d'épaisseur et sous écran rouge, permettant une absorption maximum au voisinage de 700 millimicrons. On peut d'ailleurs attendre davantage (jusqu'au lendemain par exemple) sans inconvénient notable. L'absorption due à la cuve elle-même (" tare " de la cuve) se trouve automatiquement déduite si l'on établit le zéro de l'appareil sur le témoin (tube 5). Cette manière de faire élimine en même temps les erreurs éventuelles dues à la présence possible de traces de silice dans les réactifs. La courbe d'étalonnage est alors une droite passant par l'origine. Il est nécessaire de la refaire pour chaque série de dosages.

On calculera la quantité de silicium contenue dans la prise d'essai, en se reportant à ce graphique.

Pour obtenir la teneur en silicium par litre, de l'eau envisagée, il conviendra évidemment de tenir compte des dilutions qui auront éventuellement été faites pour permettre l'analyse.

Pratiquement, on peut souvent se contenter d'établir un seul tube étalon contenant 50 microgrammes de silicium (5 ml de solution étalon) et calculer le résultat par simple règle de trois :

- Si n est le nombre de divisions de l'électro-photomètre (lu sur le tambour) correspondant à l'étalon,

- et n' le chiffre correspondant à 5 ml de l'eau à analyser (supposée non diluée), on a :

$$\text{Silicium (en mg par litre)} = \frac{10 \, n'}{n}$$

$$\text{Silicium (exprimé en } O_2 \text{ Si)} = \frac{21,42 \, n'}{n}$$

C - Dosage de la silice totale :

Transformer la silice colloïdale éventuelle en silicate de sodium suivant la technique proposée par DIENERT et WANDENBULCKE (26).

Introduire 50 ml d'eau dans une capsule de platine :

Ajouter 0,20 g de carbonate acide de sodium en poudre :

Chauffer au bain-marie bouillant pendant 1 heure, en ajoutant de temps à autre un peu d'eau bidistillée pour remplacer celle qui disparaît par évaporation. Ajouter après refroidissement 2,4 ml d'acide sulfurique normal (°) pour neutraliser le carbonate de sodium introduit. Laisser refroidir, compléter à 50 ml.

Continuer comme pour le dosage de la silice non colloïdale. La différence entre la silice totale et la silice non colloïdale permet d'obtenir la teneur de l'eau en silice dite colloïdale.

Dosage de la silice dans quelques eaux minérales :

Nous avons tout d'abord dosé dans ces eaux la silice " non colloïdale ". Les chiffres obtenus ne pouvaient donc pas être comparés

(°) Il est à remarquer que cette quantité d'acide sulfurique normal correspond quantitativement au carbonate acide de sodium introduit. Nous l'avons remarqué tardivement, bien après la mise au point de notre technique de dosage du silicium en biologie décrite plus loin et dans laquelle nous recourons au même procédé pour neutraliser le carbonate acide de sodium.

directement à ceux fournis par les méthodes pondérales : il fallait pour cela doser la silice totale ou vérifier l'absence de silice colloïdale.

Le dosage de la silice totale, pratiqué dans les eaux d'Allevard, de Chaudesaigues, de Royat, (Source Eugénie), de Saint Nectaire, de Vittel (Source Hépar) nous a conduit au même résultat que celui de la silice non colloïdale. Sans faire d'hypothèses sur la nature chimique des combinaisons du silicium, nous pouvions en conclure que dans le cas des eaux minérales cet élément participait en totalité à la réaction colorimétrique. Aussi n'avons nous fait pour les autres eaux minérales que le dosage direct. Le tableau suivant rassemble nos résultats et les confronte avec ceux obtenus par voie pondérale.

DOSAGE DE LA SILICE TOTALE DANS QUELQUES

EAUX MINERALES

Origine de l'eau	Source	Résultats, exprimés en mg de silice (O ₂ Si) par litre.		Auteurs des dosages pondéraux et n° de Référence.
		Méthode colorimétrique proposée	Méthode pondérale	
<u>Allevard</u> (Isère)	-	11,25	13,9	Institut d'Hydrol. et Climatol.(50).
<u>Brides-les-Bains</u> (Savoie)	-	38	43	id.
<u>Challes</u> (Savoie)	-	24	-	id.
<u>Charbonnières</u> (Rhône)	-	20	22	PIERY, CLUZET, etc... (94)
<u>Chateauneuf</u> (Puy-de-Dôme)	-	91	80	LEFORT (73)
<u>Chatelguyon</u> (Puy-de-Dôme)	- Louise - Suzanne	113 101	104 104	Institut d'Hydrol. et Climatol.(50).
<u>Chaudesaigues</u> (Cantal)	-	128	-	id.
<u>Evian</u> (Hte-Savoie)	- Bonnevie - Cachat	13 12	- -	- -
<u>La Bourboule</u> (Puy-de-Dôme)	-	100	-	-
<u>Le Mont-Dore</u> (Puy-de-Dôme)	- Madeleine - César	152 155	170 160	CLOGNE & DRILHON (22)

DOSAGE DE LA SILICE TOTALE DANS QUELQUES

Eaux MINÉRALES

(Suite)

Origine de l'eau	Source	Résultats, exprimés en mg :		Auteurs des dosages pondéraux et n° de Référence.
		de silice (O ₂ Si) par litre	de silice (O ₂ Si) par litre	
		Méthode colorimétrique proposée	Méthode pondérale	
=====				
<u>Royat</u>	- Eugénie	121	97,7	Institut d'Hydrol.
(Puy-de-Dôme)	- César	88,5	82,4	et Climatol. (50).
<u>Sail-sous-Couzan</u>	- Gatier	39	32,4	
(Loire)	- Julien	40,5	46,3	
			41,8	FABRE (32)
<u>Saint-Gervais</u>	- du Tor-			
(Savoie)	- rent	35	32,9	CHUZET, NOGIER, etc... (23)
<u>Saint-Nectaire</u>	-			
(Puy-de-Dôme)	-	102	110	NIVET (89)
<u>Salins-Moutiers</u>	- Grande			
(Savoie)	Source	28	31,8	Institut d'Hydrol. et Climatol. (50).
<u>Uriage</u>	-			
(Isère)	-	31,5	29,5	id.
<u>Vichy</u>	- Grande			
(Allier)	Grille	53,5	60,4	id.
	- Hôpital	41	46,4	id.
<u>Vic-le-Comte</u>	-			
(Puy-de-Dôme)	-	140	160	NIVET (89)
<u>Vittel</u>	- Grande			
(Vosges)	Source	10	11,2	Institut d'Hydrol.
	- Hépar	10	11,8	et Climatol. (50).

Dosage de la silice dans les eaux d'alimentation

Nous avons dosé le silicium dans les eaux du Rhône et de la Saône à Lyon. Nous avons opéré sur des échantillons prélevés directement dans le fleuve et filtrés sur coton hydrophile lavé à l'eau bidistillée.

Les chiffres obtenus au cours de quatre dosages effectués à quelques jours d'intervalle varient dans d'assez fortes proportions : Les voici, exprimés en mg. de silice ($O_2 Si$) par litre :

Eau du Rhône = 4 - 3,4 - 5,8 - 4,7.

Eau de la Saône = 3,2 - 4,1 - 4,4 - 4,2.

Dosage de la silice dans divers réactifs

A titre de curiosité, nous avons dosé le silicium dans une lessive de soude et dans des solutions titrées de soude préparées depuis un certain temps. Il va sans dire que des dilutions parfois considérables ont été nécessaires pour ces dosages.

Voici nos résultats, exprimés en grammes de silice ($O_2 Si$) par litre :

Lessive de soude (préparée depuis 6 mois) : 2,7

Solution normale de soude (Préparée depuis 45 jours) : 0,04

Solution décijnormale de soude (Préparée depuis 2 ans) : 0,30

Nous avons recherché le silicium dans la " soude pure à l'alcool " en pastilles, qui servit à préparer ces solutions : nous n'avons mis en évidence dans ce produit que des traces de silice, sans rapport avec les quantités trouvées ci-dessus. Ces résultats apportent donc une preuve nouvelle de l'attaque progressive du verre des réci-
-pients contenant des solutions alcalines; attaque d'autant plus impor-
-tante que ces solutions sont plus concentrées. Ce fait était déjà connu, mais il convenait de le rappeler pour mettre en garde contre les incon-
-véniants d'une trop longue " conservation " de certains réactifs, et aussi parce qu'il explique peut être en partie les résultats surpre-
nants publiés sur la teneur " normale " des organismes en silicium.

Chapitre VI

DOSAGE DU SILICIUM DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES

(MODE OPERATOIRE PERSONNEL)

Le dosage du silicium dans les milieux biologiques diffère du dosage dans les solutions faiblement minéralisées (cas des eaux), surtout par la nécessité d'une destruction préalable de la matière organique.

Nous avons suffisamment insisté, au début du chapitre III, sur les raisons qui nous ont fait choisir une méthode de minéralisation par le carbonate acide de sodium - celle de PARRI et SCOTTI (92) - pour ne pas avoir à y revenir. Une telle opération présente cependant l'inconvénient de laisser subsister dans le milieu l'excès de l'adjuvant employé. Nous dirons plus loin (voir page 89) comment nous avons résolu les difficultés qui en résultent, et qui ont longtemps constitué pour nous un réel obstacle, par suite de la nécessité de définir avec certitude l'acidité du milieu réactionnel.

Plutôt que dans son principe, c'est par l'ensemble des détails du mode opératoire, que la méthode proposée dans ce chapitre diffère de celle des auteurs italiens; mais nous montrerons chemin faisant que les nombreux perfectionnements apportés renouvellent en fait le procédé et lui confèrent la sécurité qui manquait au mode opératoire initial.

Nous décrirons successivement les réactifs, la préparation de la solution étalon, et les différentes phases du dosage proprement dit. Un artifice typographique nous permettra, en faisant précéder chaque paragraphe de la technique des considérations qui le justifient, d'éviter au lecteur de fastidieuses répétitions.

o o o

A - Réactifs (°) :

- 1 - Carbonate acide de sodium pur (pour analyses)(°°).
- 2 - Solution de molybdate d'ammonium pur (°°), à 10 p. 100.
(Durée de conservation : 10 jours).
- 3 - Solution de citrate trisodique pur (pour analyses) (°),
à 50 p. 100.
- 4 - Solution de sulfite neutre de sodium pur (°°), à 20 p. 100,
(Durée de conservation : 1 mois).
- 5 - Acide sulfurique 2 N
- 6 - Solution étalon de silicate de sodium.

(°) En ce qui concerne la préparation des réactifs en solution, voir page 72 (en note).

(°°) Produit " Prolabo "

Préparation de la solution étalon de silicium

(L'étalon proposé par PARRI et SCOTTI (solution acide de silico-
(molybdate d'ammonium - voir page 50) ne nous ayant pas donné satis-
(-faction, nous avons renoncé à son emploi. Nous avons également reje-
(-té les solutions étalons de ISAACS (51) et de KING (57) préparées
(par dissolution d'un poids connu de silicate de sodium pur dans l'eau.
(Il est difficile d'obtenir par ce procédé le titre attendu; certains
(échantillons de silicate de sodium se dissolvent mal; d'autre part
(ce corps n'a pas une composition rigoureusement constante et le ti-
(-trage pondéral des solutions ainsi obtenues s'avère nécessaire.

(Nous avons tenté d'employer comme étalon une solution de si-
(-licatate de sodium provenant de la fusion d'un poids connu de silice
(pure en poudre très fine avec le carbonate acide de sodium. Or, nous
(avons constaté que la fusion de 50 mg de silice avec 2 g de carbonate
(acide de sodium (quantités utilisées par PARRI et SCOTTI pour la
(préparation de leur solution étalon de silico-molybdate d'ammonium)
(est parfois très malaisée. D'autre part la reprise par l'eau donne un
(liquide alcalin qui ne peut être conservé dans des récipients de ver-
(-re sans augmentation rapide de son titre en silicium. Si on le neu-
(-tralise par l'acide sulfurique dilué, on observe après un temps pou-
(-vant varier d'une semaine à quelques mois une floculation légère
(accompagnée d'une diminution du titre, que l'on pourrait sans doute
(éviter, en conservant le liquide alcalin dans un récipient de matière
(plastique; mais PARRI et SCOTTI, signalent comme un phénomène général
(l'abaissement progressif du titre des solutions de silicate de sodium.
(Nous confirmons ce point mais nous avons remarqué que si ce phénomène
(a lieu effectivement dans le cas de solutions très diluées (10 mg
(par litre) après un temps d'ailleurs fort long (3 mois au moins),
(il n'en est pas de même avec les solutions concentrées. On peut donc
(constituer une solution-mère concentrée de silicate de sodium, dans
(laquelle on dose le silicium par la méthode pondérale classique.
(Stockée dans un flacon en matière plastique, elle se conserve sans
(altération de titre pendant plus d'un an. Des solutions étalon plus
(diluées seront faites ensuite au fur et à mesure des besoins.

a - Solution mère

C'est une solution officinale de silicate
de sodium pur (°) ($d = 1,33$, correspondant à 36° Bé) diluée au demi,
dont le titre exact est déterminé par voie pondérale.

Dosage du silicium

Introduire 20 ml de solution dans une cap-
-sule en porcelaine neuve de 100 ml. Ajouter goutte à goutte 10 ml

d'acide chlorhydrique officinal au quart (en volumes). Evaporer le tout au bain-marie, puis au bain de sable à + 200° C en triturant continuellement pour éviter toute projection et obtenir un résidu pulvérulent. Répéter trois fois ces opérations. Parachever l'insolubilisation de la silice par ébullition d'une heure avec 10 ml d'acide perchlorique pur (opérer sous une hotte). Dessécher au bain de sable et porter au four à moufle à + 700°C pendant deux heures. Reprendre alors le résidu par l'acide chlorhydrique à 10 p. 100 bouillant, et filtrer sur papier sans cendres, en utilisant un entonnoir à filtration rapide. Laver longuement à l'eau distillée bouillante jusqu'à disparition de la réaction de l'ion chlore dans le filtrat ($\text{N O}^3 \text{ Ag}$ en milieu nitrique). Dessécher à l'étuve (+ 100°C) le filtre sur son entonnoir. L'incinérer dans un creuset de platine taré, en observant les précautions habituelles. Laisser refroidir en exsiccateur et peser. Déduire du chiffre la teneur en silicium de la solution-mère.

b - Solution étalon de silicium

Diluer extemporanément la solution-mère avec de l'eau bidistillée, de façon que 1 ml corresponde à 0,1 mg de silicium (°).

(°) Pratiquement, on peut constituer à partir de la " solution-mère " une " solution-fille " correspondant à 10 g de silicium par litre. Cette solution se conserve un mois, sans changement appréciable de son titre. On la diluera extemporanément au centième pour obtenir la solution étalon de silicium utilisée au cours du dosage.

B - Mode opératoire

I° - Prise d'essai

(Il nous a paru impossible de doser correctement le silicium en par-
(-tant de prises d'essai aussi faibles que celles indiquées par PARRI
(et SCOTTI (voir page 45). Tandis que progressait notre travail, et
(que se précisait notre mode opératoire, nous acquérions la convic-
(-tion que les teneurs réelles des milieux biologiques en silicium
(étaient très inférieures à celles annoncées par la plupart des auteurs.

La prise d'essai doit bien entendu être variable avec la teneur en silicium de la substance analysée. Le mieux est de pratiquer un premier essai sur 1 g de substance, et de modifier au besoin cette quantité afin d'obtenir dans le dosage définitif une coloration finale comparable à celle de la gamme étalon proposée plus loin. Nous conseillons les quantités approximatives suivantes :

- 2 ml = pour le sang, le sérum, le plasma, les urines;
- 1 g = pour les hématies et les divers tissus;
- 0,2g = pour le tissu pulmonaire.... etc.... .

La prise d'essai sera effectuée avec des précautions spéciales : instruments chromés, récipients de verre pyrex lavés à l'eau bidistillée, etc.... .

Le sang sera prélevé, non pas sur fluorure mais sur citrate trisodique.

2° - Minéralisation

(A quelques détails près la méthode proposée par PARRI et SCOTTI con-
(-vient parfaitement. Le carbonate acide de sodium ne contient pas de
(silicium. Sa fusion est aisée et la destruction de la matière organi-
(-que est rapide. Il est nécessaire d'opérer dans une capsule de pla-
(-tine : l'argent risque en effet de fondre et le nickel serait atta-
(qué au cours des opérations faisant suite à la minéralisation. - Le
(fait de partir d'une prise d'essai très supérieure à celle indiquée
(par les auteurs italiens pose un problème. Il n'est pas possible de
(minéraliser avec moins de 1g de carbonate acide de sodium; d'autre
(part le volume final du liquide de reprise du produit de fusion alca-
(-line ne doit pas excéder 5 à 10 ml; une dilution plus grande, aug-
(-mentée encore par l'apport des réactifs conduirait à une coloration
(finale trop faible et serait préjudiciable à la sensibilité de la
(méthode. On fera donc en sorte de s'éloigner le moins possible des
(proportions indiquées ci-dessus.

Peser le carbonate acide de sodium au centigramme près.

Le mélanger intimement avec la prise d'essai. Deux cas particuliers
sont à envisager.

a) - Cas des liquides biologiques

Etaler le carbonate acide de sodium sur le fond de la
capsule et ajouter goutte à goutte le liquide à analyser. Agiter cir-
-culairement avec un fil de platine pour provoquer un mélange intime.
S'aider au besoin d'un peu d'eau bidistillée. Porter à l'étuve à + 95°C
jusqu'à dessiccation complète.

b) - Cas des tissus, organes, etc...

Procéder, dans la capsule de platine elle-même à la
dessiccation préalable de la substance et à son incinération partielle

jusqu'à l'obtention de cendres brunes et cessation de tout dégagement de fumée. Après cette opération rapide, laisser refroidir et diviser le résidu avec un agitateur de platine en évitant toute projection. Ajouter alors 1g de carbonate acide de sodium et quelques gouttes d'eau bidistillée pour faciliter le mélange. Porter à l'étuve jusqu'à dessiccation.

On peut encore, pour simplifier les manipulations, ajouter le tissu frais au carbonate acide de sodium et procéder d'emblée à la minéralisation. Il faut dans ce cas se méfier des projections qui entraîneraient des pertes. Cette variante est recommandée dans le cas du tissu cérébral (riche en phosphore) dont l'incinération directe répétée un certain nombre de fois risque de détériorer la capsule de platine. Déposer le prélèvement sur le bicarbonate de sodium étalé au fond de la capsule; il est alors possible de l'incinérer partiellement sans le moindre contact avec le métal. Diviser la masse charbonneuse boursouflée au moyen d'un fil de platine, en s'aidant au besoin d'un peu d'eau. Dessécher comme ci-dessus.

Fusion alcaline proprement dite : Porter la capsule d'abord dans la flamme éclairante, puis dans la flamme chauffante d'un bec Bunsen. Le carbonate acide de sodium fond peu à peu et la matière organique disparaît : On obtient un liquide limpide. Poursuivre le chauffage cinq minutes après la cessation complète du dégagement de bulles d'anhydride carbonique.

3° - Mise en solution et neutralisation

(La définition rigoureuse de l'acidité du milieu réactionnel étant -
(ainsi que nous l'avons dit plus haut (p. 58) - d'une importance
(capitale pour l'obtention de résultats corrects, la neutralisation
(du carbonate alcalin en excès doit nécessairement précéder l'addition
(d'une quantité d'acide exactement connue. Le procédé le plus simple -
(puisqu'on a pesé très exactement le carbonate acide de sodium utilisé -
(est de reprendre le produit de fusion alcaline par la quantité théo-
(rique d'acide sulfurique qui lui correspond.

(L'acide sulfurique présente ici de multiples avantages :

- (- il n'est pas volatil;
- (- il n'apporte aucune gêne dans la suite du dosage, le
- (sulfate de sodium formé ne tamponnant pas le milieu réactionnel.

(Au cours de la minéralisation, le carbonate acide de sodium est
(transformé en carbonate neutre mais l'équivalence avec l'acide sul-
(-furique persiste. On peut objecter qu'une petite quantité de carbo-
(-nate acide de sodium participe chimiquement à la réaction de miné-
(-ralisation et disparaît ainsi; mais nos expériences nous ont montré
(que cette quantité est négligeable.

(La neutralisation doit être pratiquée à l'aide d'une solution
(d'acide sulfurique 2 N, qui évite une dilution trop grande du milieu
(réactionnel : à 1g de carbonate acide de sodium correspondent prati-
(-quement 6 ml d'acide sulfurique 2 N (5,95 ml d'après la théorie).

Après refroidissement, ajouter goutte à goutte dans la capsule de platine 6 ml d'acide sulfurique 2 N. (Recouvrir d'un entonnoir renversé, pour éviter les projections de liquide). Après dissolution complète et cessation de l'effervescence, transvaser dans un tube à essais portant un trait de jauge à 9,5 ml, et d'assez gros calibre (20/2 cm) pour permettre les agitations sans retournement. Laver la capsule et l'entonnoir avec 2 fois 1,5 ml d'eau bidistillée que l'on joindra au liquide initial.

(Cette manière de faire présente un autre avantage
(très important : l'acide sulfurique 2 N ne dissout pratiquement pas
(l'oxyde ferrique formé au cours de la minéralisation des tissus ri-
(-ches en fer (muscles, sang, etc...) et permet ainsi une élimination
(facile de ce métal très gênant.

Pour cela, transvaser le liquide provenant de la reprise par l'acide sulfurique dans un tube en pyrex, et centrifuger 5 minutes à 3000 T.M. . Décanté dans le tube jaugé. Laver la capsule et l'entonnoir avec 1,5 ml d'eau bidistillée. Faire passer ce liquide dans le tube à centrifuger. Agiter sans retournement pour laver à la fois le tube et le culot d'hydroxyde ferrique. Centrifuger à nouveau et joindre le liquide décanté au précédent.

Faire un second lavage de la capsule et du tube à centrifuger avec 1,5 ml d'eau bidistillée. Compléter finalement les liquides réunis dans le tube à essais à 9,5 ml (trait de jauge).

4° - Préparation des étalons et du témoin

(Il est capital que les étalons contiennent exactement les mêmes quantités de réactifs ($\text{CO}_3 \text{HNa}$, $\text{H}_2 \text{SO}_4$) que l'essai :

Prendre 4 capsules de verre pyrex (dont on vaselinera le bec pour favoriser les transvasements).

Introduire dans chacune 1g de carbonate acide de sodium pesé au cg près, puis, goutte à goutte, 6 ml exactement mesurés d'acide sulfurique 2 N. (Recouvrir d'un entonnoir renversé pour éviter les projections).

Après cessation de l'effervescence et dissolution complète, mesurer au moyen d'une pipette de précision dans les capsules

numérotées : I - 2 - 3 - 4

 0 - 0,1 - 0,2 - 0,3 ml

de solution étalon. Ces quantités correspondent à :

 0 - 10 - 20 - 30 microgrammes

de silicium.

Transvaser dans quatre tubes à essais jaugés à 9,5 ml et numérotés; compléter au trait de jauge avec les eaux de lavage des capsules et des entonnoirs.

5° - Acidification

(Compte tenu des résultats de nos recherches antérieures, les liqui-
(-des neutres doivent alors être acidifiés de manière rigoureusement
(identique. Le volume d'acide sulfurique 2 N introduit (0,5 ml) cor-
(-respond à la quantité nécessaire et suffisante pour assurer la forma-
(-tion du complexe silico-molybdique dans les conditions de notre tech-
(-nique, c'est-à-dire lorsque le volume du liquide finalement obtenu,
(- prêt à l'addition des réactifs -, est de 10 ml - Dans ces mêmes con-
(--ditions, le phosphomolybdate d'ammonium se forme d'une manière incom-
(-plète et sera décomposé sans difficultés par le citrate trisodique.

Ajouter dans tous les tubes (témoin, étalons, essai) 0,5 ml d'acide sulfurique 2 N -

Mélanger; attendre 10 minutes.

6° - Production du bleu de Molybdène

(Les réactifs seront les mêmes que dans le cas des eaux phosphatées
((voir p. 70); mais nos expériences nous ont amenés à en modifier
(légèrement les quantités (2 ml au lieu de 1).

Introduire dans chaque tube, toujours dans le même ordre :

- 2 ml de solution de molybdate d'ammonium; mélanger, attendre 10 minutes;

- 2 ml de solution de citrate trisodique; mélanger; attendre 3 minutes exactement;

- 2 ml de solution de sulfite neutre de sodium, mélanger; attendre 1 heure.

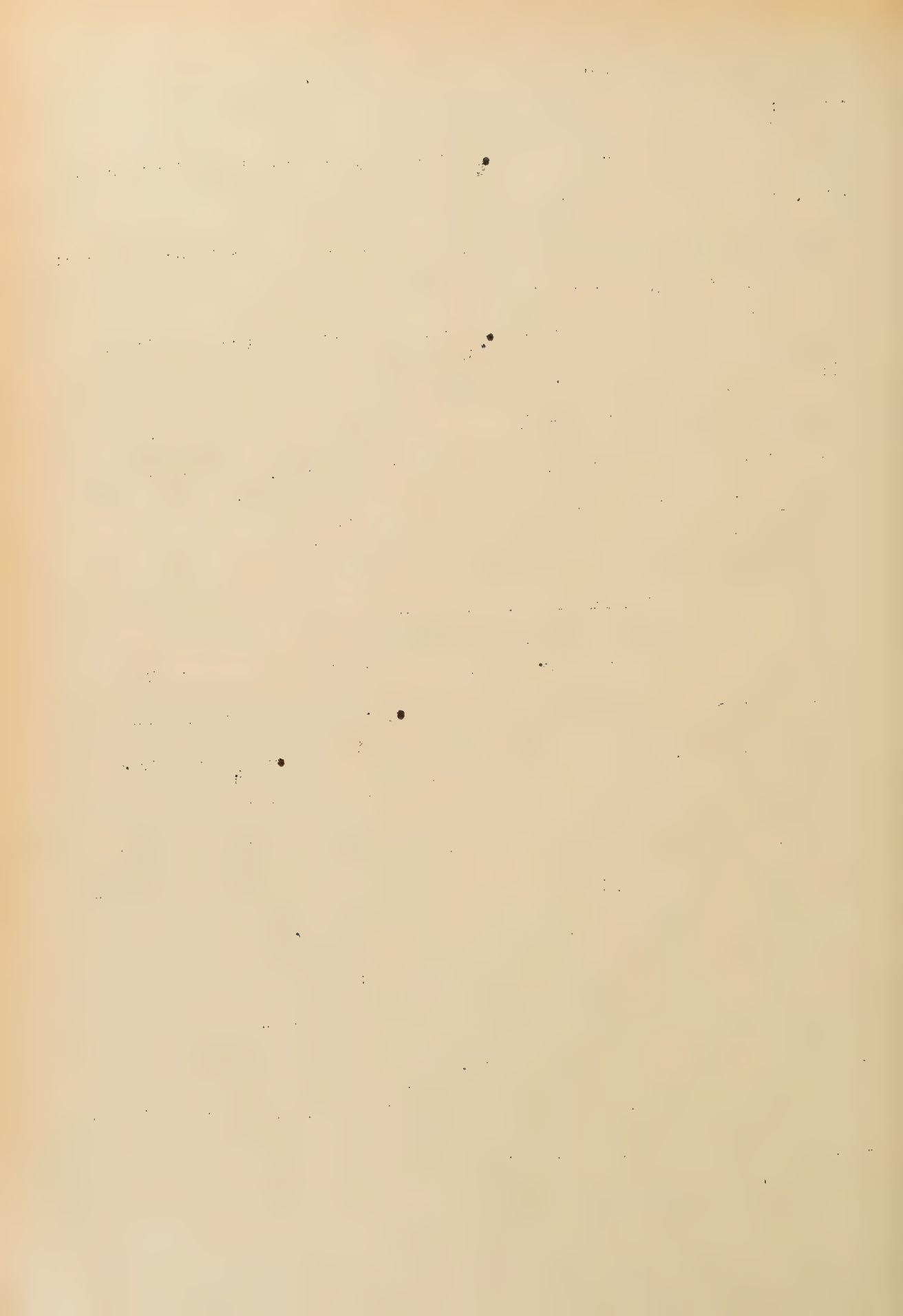
Conformément à nos conclusions antérieures, la durée d'action des réactifs, et plus particulièrement celle du citrate trisodique devra être rigoureusement observée.

7° - Lecture de la réaction

Une heure au moins après l'addition du sulfite de sodium, introduire le contenu des tubes, où s'est développé une belle coloration bleue, dans les cuves d'un colorimètre photo-électrique. Nous nous sommes servis personnellement de l'électrophotomètre de MEUNIER, muni de l'écran rouge (permettant une absorption maximum au voisinage de 700 millimicrons). Pour chaque mesure faire trois lectures et prendre la moyenne. Pour donner au dosage toute la précision possible, construire un graphique en portant :

- en abscisses le nombre de micro-grammes de silicium contenu dans les tubes étalons.

- en ordonnées les divisions du tambour de l'appareil correspondant aux opacités.



La courbe d'étalonnage est une droite passant par l'origine. - La nécessité absolue d'opérer toujours dans des conditions identiques commande de refaire la droite d'étalonnage, d'ailleurs limitée pratiquement à 3 points, pour chaque série de dosages. On supprime ainsi de façon radicale l'influence de la température et des " impondérables " qui rendent parfois aberrants les microdosages isolés. Pour la même raison, le dosage proprement dit sera autant que possible répété deux ou trois fois et le résultat sera calculé sur la moyenne.

Calcul du résultat : Il est immédiat si l'on a construit la droite d'étalonnage. Comme dans le cas du dosage du silicium dans les eaux, on peut aussi, avec moins de précision faire une règle de trois partant des colorations de l'essai et du témoin d'intensité la plus voisine (voir page 75).

Remarques

I - L'opacité du témoin est dans la plupart des cas absolument nulle. Si par suite de la présence de silicium dans les réactifs elle devenait notable, il conviendrait de rechercher lequel (ou lesquels) des réactifs est à incriminer, et de recommencer le dosage avec des réactifs purs. On peut toutefois tolérer une certaine coloration du témoin, à la condition qu'elle soit inférieure à la moitié de celle de l'étalon correspondant à 10 micro-grammes de silicium. Le zéro de l'appareil étant réglé sur ce témoin, la courbe d'étalonnage

reste pratiquement valable. Pour se prémunir contre les souillures accidentelles par des traces de silicium, du témoin, des étalons et des essais, il est bon de préparer deux témoins et deux gammes étalon, et de procéder chaque fois qu'on le pourra, à plusieurs dosages simultanés sur la même substance. La rapidité des mesures électro-photométriques est telle que cette façon d'opérer ne complique pas sensiblement le dosage.

2 - Il n'est pas obligatoire d'effectuer la colorimétrie une heure exactement après l'addition du sulfite de sodium : nous avons obtenu d'excellents résultats même après avoir attendu 24 heures.

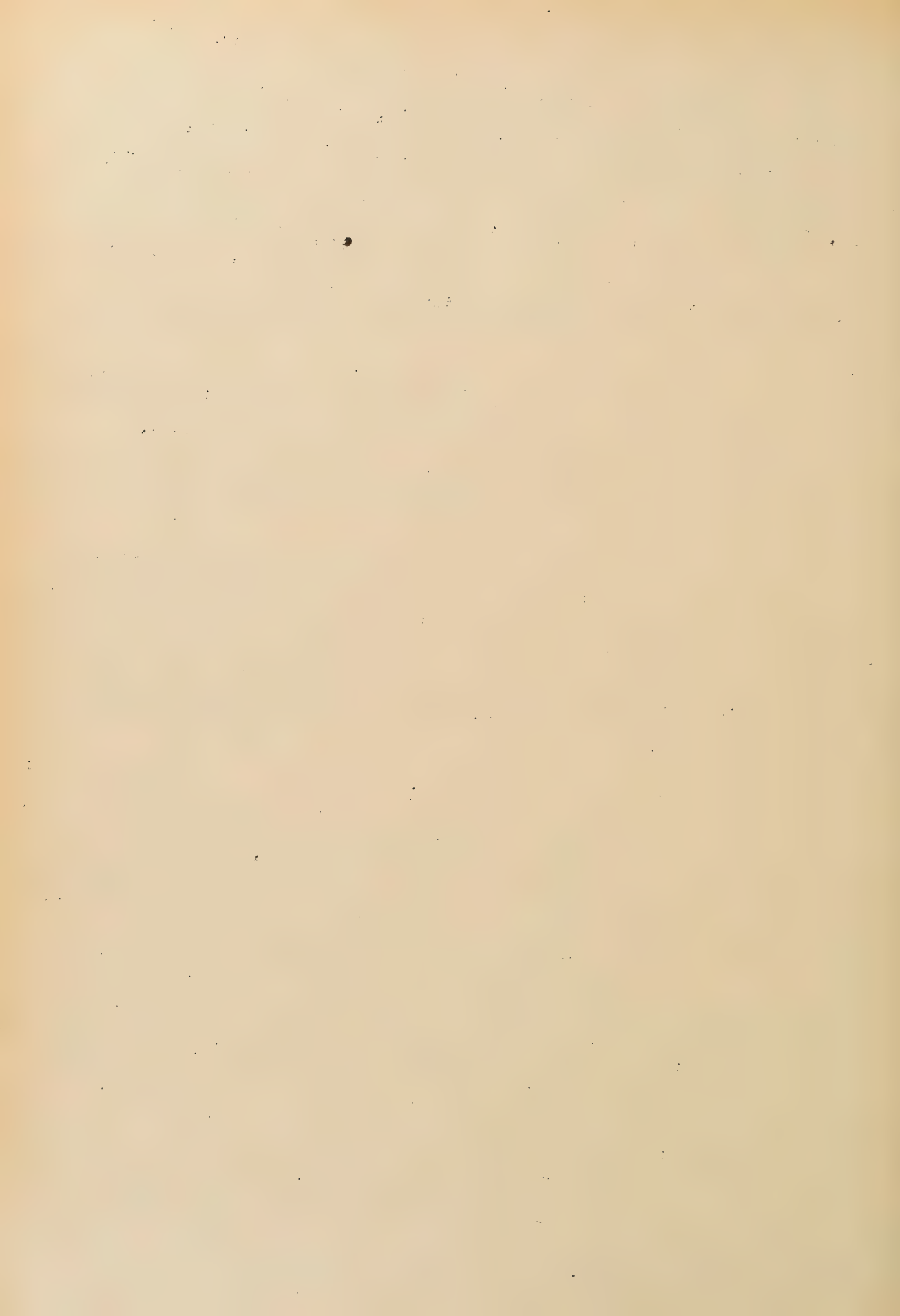
3 - Lorsque les dosages portent sur des substances très pauvres en silicium, il est possible, sans augmenter sensiblement la prise d'essai, de concentrer le bleu de molybdène finalement obtenu dans un petit volume d'alcool iso-amylique (solvant indiqué par CHARLOT et GAUGUIN (19)).

Opérer comme suit :

Une heure au moins après l'addition du sulfite de sodium, mesurer dans chacun des tubes (témoin, étalons, essais) au moyen d'une pipette à 2 traits, 5 ml d'alcool iso-amylique pur et incolore.

Introduire alors goutte à goutte en agitant continuellement : 5 ml d'acide sulfurique au quart en volumes. Puis agiter vigoureusement les tubes, par retournement, pendant une minute. Par décantation : 2 phases se séparent :

- une phase aqueuse, inférieure, incolore;
- une phase alcoolique, supérieure, colorée par le bleu de molybdène.



Prélever cette dernière avec une pipette et l'introduire dans une cuve cylindrique de 2 ml de capacité. Le témoin et les étalons seront traités de la même façon.

4 - Les tentatives de dosage oxydimétrique du bleu de molybdène extrait par l'alcool iso-amylique ne nous ont pas donné des résultats suffisamment réguliers pour que nous puissions en faire état ici.

Les recherches qui nous ont conduit à l'élaboration de cette méthode ont été effectuées en grande partie (chapitre IV) sur des milieux " artificiels ". Etant donnée la complexité des milieux biologiques à l'analyse desquels nous la destinions, il s'imposait évidemment de vérifier les résultats fournis par la technique proposée. Comme test d'exactitude, nous avons fait appel à la méthode habituelle des " quantités ajoutées ", que nous avons appliquée au sérum sanguin et au tissu cérébral. Un tel contrôle nécessitant la connaissance préalable supposée exacte de la teneur en silicium de ces derniers, nous préférons en reporter l'exposé aux paragraphes du chapitre suivant où sont respectivement indiquées les valeurs obtenues pour chacun des milieux envisagés.

Chapitre VII

APPLICATIONS BIOLOGIQUES

Les quelques résultats réunis dans ce chapitre (qui fait en quelque sorte " pendant " au chapitre V) n'ont pas d'autre prétention que celle de montrer le parti que l'on peut tirer, en biologie, de la méthode mise au point ci-dessus. Nous avons groupé ces résultats indépendamment de ceux obtenus en hydrologie parce que leur portée est tout autre et permet d'amorcer une discussion valable sur la présence et le rôle éventuel du silicium dans les milieux biologiques.

C'est avec un désir de confrontation que nous avons pratiqué sur le sang total, le sérum, le plasma, les hématies, les urines, des dosages en nombre certes très limité, mais avec assez de soin pour nous permettre de nous faire une opinion valable sur les résultats de certains de nos devanciers..

Nous avons également procédé à quelques dosages dans différents tissus ou organes animaux, en insistant surtout sur le tissu nerveux (cerveau, moelle épinière,) dans lequel certains auteurs ont annoncé des teneurs en silicium élevées, tandis que nous n'en trouvions que des traces.

C'est toujours avec le seul souci de montrer la généralité d'emploi du mode opératoire proposé que nous avons dosé le silicium

dans les différentes parties d'une " cellule " unique se prêtant bien à l'analyse : l'oeuf de poule.

Dans le chapitre suivant, nous montrerons enfin les services que l'on peut attendre de notre méthode dans l'analyse du tissu pulmonaire normal ou silicotique.

o o o

A - Sang (°)

I°) Teneur en silicium du sérum sanguin humain

a) Résultats

Les chiffres groupés ci-dessous correspondent, pour chaque sujet, à la moyenne de deux dosages dont les résultats diffèrent entre eux de 5 p. 100 au maximum.

(°) Les prélèvements ont été faits avec des précautions particulières pour éviter tout apport accidentel de silicium - tubes à essai ou à centrifuger, seringues, aiguilles, etc.... lavés à l'eau bidistillée, puis à l'alcool - éther et séchés.



Sujets examinés	Silicium en mg par litre de sérum
I - R.M...., cliniquement sain.....	4,0
2 - C.R...., - -	4,6
3 - J.V...., - -	5,2
4 - J.T...., atteint de cirrhose éthylque du foie.....	5,3
5 - J.B...., atteint de néphrose lipoïdique.....	3,7
6 - L.K...., diabétique et phtisique....	3,9
7 - M.F...., diabétique.....	3,8
Moyenne	4,3

b) Expériences de contrôle

Nous avons dosé le silicium de la même manière dans le sérum d'un sujet cliniquement sain (F.G...., 24 ans). Trois essais nous ont conduit aux chiffres suivants (mg de silicium par litre) :

1er essai	:	5,3
2è essai	:	5,1
3è essai	:	5,2
Moyenne	:	5,2

Ecart maximum entre les chiffres trouvés : 4 p. 100.

Admettant provisoirement ce résultat moyen comme exact, nous avons dosé le silicium dans le même sérum après lui avoir ajouté cet élément dans les proportions de 5, 10, 20, 30 micro-grammes par ml. (Nous avons utilisé pour cela la solution titrée renfermant 100 mg de silicium par l., dont le mode de préparation a été décrit plus haut (voir p. 84)).

Nous avons obtenu les résultats suivants :

<u>Silicium ajouté</u>	<u>Silicium trouvé</u>	<u>Erreur</u>
(en mg par litre de sérum)	(en mg par litre de sérum)	(% Si total)
5	9,8	- 3,9
10	14,1	- 7,2
20	24,0	- 4,7
30	32,3	- 8,2

L'examen de ces chiffres montre l'existence d'une erreur constante par défaut, que nous n'avons pas pu corriger en augmentant la durée de la fusion alcaline suivant les indications de BODNAR & TOROK (9).

Cette erreur reste cependant dans les limites tolérables pour une micro-méthode aussi délicate.

2°) Teneur en silicium des hématies, du plasma et
du sang total humain

Le sang de chacun des sujets a été prélevé sur citrate trisodique. Nous en avons centrifugé une partie pendant 15 minutes à 3000 T.M. pour séparer plasma et hématies.

Nos résultats, exprimés uniformément en mg par litre (qu'il s'agisse du sang total, du plasma ou des hématies) sont rassemblés dans le tableau suivant. Les chiffres donnés correspondent comme les précédents à la moyenne de 2 dosages donnant des résultats qui présentent entre eux un écart maximum de 5 p. 100.

Sujets examinés	Silicium en mg par litre		
	Sang total	plasma	érythrocytes
I - A.F..., cliniquement sain	6,8	4,25	9,9
2 - M.F..., - -	5,8	4,0	8,2
3 - J.V..., - -	6,2	5,0	8,1
4 - C.M..., - -	6,0	4,6	7,9
5 - J.C..., cirrhotique	7,2	5,2	9,7
6 - A.T..., phtisique	5,5	3,3	-
7 - M.D..., diabétique, phtisique	6,8	4,9	9
Moyennes	6,3	4,6	8,8

Interprétation

En se reportant au tableau figurant page I5, on constatera que nos chiffres sont du même ordre de grandeur que ceux de KING, STANTIAL et DOLAN (62) FRANCK et GERSTEL (34) mais présentent entre eux des écarts moins grands. - Ils sont légèrement plus faibles que ceux de GONNERMANN (42), PARRI et SCOTTI (92), RICHTER (IOI).

Leur examen montre que le sérum et la plasma contiennent pratiquement la même quantité de silicium. Les hématies contiennent plus de silicium que le plasma, d'où il résulte que le sang total en contient une quantité intermédiaire.

Nos chiffres les plus faibles se rapportent à un malade phtisique; mais il peut fort bien s'agir d'une coïncidence tout à fait fortuite. Nous en dirions autant du chiffre élevé trouvé chez le sujet cirrhotique.

B - URINES

I°) Teneur en silicium des urines humaines :

Nos dosages ont porté sur des urines de 24 heures provenant de sujets cliniquement sains. Les chiffres ci-dessous, ainsi d'ailleurs que ceux du prochain tableau, correspondent à la moyenne de 2 dosages dont les résultats présentent entre eux des écarts variant de I à 6 p. IOO.

que ceux qui correspondent au silicium par litre d'urine.

2°) Influence de l'alimentation sur l'élimination urinaire du silicium.

Conformément à l'opinion habituellement admise, la nature de l'alimentation joue probablement un rôle important. Les dosages suivants ont été pratiqués sur les urines de 24 heures d'individus soumis qualitativement au même régime depuis 3 jours. Les chiffres qui correspondent à l'élimination quotidienne du silicium présentent des écarts encore très notables mais beaucoup plus faibles que ceux notés ci-dessus.

Sujets examinés	Volume des urines de 24 h. en ml	Silicium en mg p. l.	Silicium en mg par 24 h.
R.V....., 24 ans	1940	10	19,4
P.R....., 26 ans	1460	8	11,65
H.T....., 25 ans	2520	6	15
J.L....., 25 ans	2200	11	24,2
M.M....., 24 ans	2500	6,5	16,25
C.L....., 27 ans	1660	10	16,6

3°) Influence de l'ingestion de silice pulvérisée
ou d'un silicate alcalin, sur l'élimination
urinaire du silicium :

A la suite des dosages précédents, nous avons entrepris quelques recherches très sommaires sur l'élimination urinaire du silicium ingéré sous des formes diverses :

I - J.L...., (25 ans, cliniquement sain).

- Quantité moyenne de silicium éliminée par les urines en 24 heures = 12 mg.- (chiffres obtenus pendant 3 jours consécutifs = 10,4 - 13,5 - 12,1 mg.

A 8 h 30, le 4^e jour, le sujet étant à jeûn, ingestion de 1g de silice pure en poudre (°).

- Quantité de silicium éliminée par les urines durant les 24 heures suivantes = 22 mg (°°).

- Quantité de silicium éliminée entre la 24^e et la 48^e heures suivantes = 15 mg.

(°) Produit " Prolabo ", type " pour chromatographie ".

(°°) Tous ces chiffres correspondent, comme précédemment, à la moyenne de 2 dosages dont les résultats présentent un écart maximum de 5 p. 100.

2 - M.B...., (23 ans, cliniquement sain).

(Expérience identique à la précédente, mais la silice administrée au sujet a été traitée au préalable par une ébullition prolongée avec l'acide perchlorique, suivie d'une calcination à haute température).

- Quantité moyenne de silicium éliminée par les urines en 24 heures = 19 mg - (Chiffres obtenus pendant 3 jours consécutifs : 16 - 23 - 18 mg).

- Quantité de silicium éliminée durant les 24 heures suivantes = 22 mg.

- Quantité de silicium éliminée entre la 24^è et la 48^è heures suivantes = 24 mg.

3 - M.B...., (10 jours plus tard).

- Quantité moyenne de silicium éliminée par les urines en 24 heures = 22 mg (chiffres obtenus pendant 3 jours consécutifs = 18 - 25 - 23 mg).

- Teneur en silicium du sang = 7 mg par litre
(dosage unique, effectué le premier jour).

A 8 h, le 4^è jour, le sujet étant à jeûn, ingestion de 2 ml de solution de silicate de sodium pur (densité = 1,33).

- Quantité de silicium éliminée par les urines durant les 24 heures suivantes = 59 mg.

- Quantité de silicium éliminée entre la 24^è et la 48^è heures = 34 mg.

Teneur en silicium du sang, 12 heures après l'ingestion de silicate = 9,2 mg.

Conclusion :

L'administration de silice pulvérulente telle qu'elle est livrée par le commerce pour les besoins de la chromatographie, se traduit par une élévation notable du taux d'élimination urinaire du silicium.

La silice insolubilisée par ébullition préalable avec l'acide perchlorique, puis calcinée, ne semble pas absorbée par la paroi du tube digestif : Son administration orale n'a aucune répercussion sur l'élimination urinaire du silicium.

Ingéré sous forme de solution de silicate de sodium, le silicium paraît facilement absorbé. Il en résulte une élévation passagère et légère du taux de cet élément dans le sang, et une augmentation considérable de son taux d'élimination urinaire.

Dans leur ensemble, ces résultats concordent avec ceux obtenus anciennement par ZICKGRAF (122), MARQ (81), etc..., et plus récemment par KING, STANTIAL et DOLAN (62). Conformément aux observations de MARQ (81), la silice absorbée par voie digestive ne s'élimine pas d'une manière immédiate, mais il nous semble trop osé d'en conclure comme cet auteur à l'existence d'un phénomène de stockage. De même on peut admettre que notre dernière expérience (ingestion de silicate de sodium), en accord avec les résultats publiés par KING, STANTIAL et DOLAN (62), démontre l'existence d'un seuil rénal d'élimination du silicium relativement bas.

Toutefois les expériences que nous venons de présenter sont extrêmement sommaires. Nous avons consciemment négligé certaines précautions élémentaires. C'est ainsi que nous n'avons pas expérimenté comme MARQ, KING, STANTIAL et DOLAN, sur des sujets soumis à un régime rigoureusement fixe et de teneur en silice connue. Or la méthode classique des " bilans nutritifs " est seule capable d'apporter au problème étudié des résultats vraiment significatifs. Il va également de soi que nous aurions gagné à suivre l'élimination urinaire du silicium plus de 48 heures après l'ingestion de cet élément. Mais si ces quelques expériences n'apportent qu'une bien faible contribution à l'étude du métabolisme du silicium, elles démontrent du moins la possibilité de ce travail grâce à l'utilisation de la méthode de dosage proposée.

C - LAIT

Dosage du silicium dans le lait de vache

Quatre dosages effectués sur des laits de vache de provenance différente nous ont donné les résultats suivants (exprimés en mg de silicium par litre) :

1er dosage	=	22
2è dosage	=	13
3è dosage	=	15
4è dosage	=	16

Ces chiffres sont supérieurs à ceux de MARQ (81)
(5 mg O_2 Si par litre) et de WEBER (cité par MARQ) (6,7 mg O_2 Si
par litre).

La teneur relativement élevée du lait de vache en silicium nous a conduit à doser cet élément dans le sang de cet animal.

Nous avons pratiqué deux dosages, sur des animaux différents. En voici les résultats, (exprimés en mg de silicium par litre):

1er dosage	=	17
2è "	=	13

Ces chiffres montrent que le sang de vache contient effectivement plus de silicium que le sang humain.

Il est probable :

- d'une part que la teneur en silicium du lait est en relation avec la teneur en silicium du sang;

- d'autre part que la teneur en silicium du sang de vache est en relation avec l'alimentation de cet animal, essentiellement constituée de végétaux et surtout de graminées riches en silicium.

D - TISSUS ET ORGANES DIVERS

I°) Dosages pratiqués chez le lapin

Nous avons opéré sur un animal unique (lapin mâle âgé de 13 mois).

Nous avons obtenu les résultats suivants (exprimés en mg de silicium par kilogramme de tissu frais ou par litre dans le cas du sang, pour permettre leur comparaison facile avec les précédents) (°).

1 - Tissu musculaire (muscles de la cuisse) =	18
2 - Tissu nerveux (cerveau)..... =	0
3 - Sang..... =	12
4 - Foie..... =	35
5 - Rein..... =	28
6 - Poumon..... =	270

Voici exprimés de la même manière les résultats correspondants obtenus par ISAACS (51), KING (58), KING et STANTIAL (61) (°°).

(°) Nos chiffres correspondent à la moyenne de 2 dosages conduisant à des résultats qui présentent entre eux un écart maximum de 6,5 p. 100. Cette remarque, s'applique à tous les chiffres qui suivront, jusqu'au terme du présent chapitre.

(°°) Ces auteurs ont exprimé leurs résultats en silice ($O_2 Si$). Nous convertissons leurs chiffres en silicium (Si) pour faciliter leur confrontation avec les nôtres.

Auteurs	ISAACS	KING	KING et STANTIAL
Cerveau	18 - 18,5 - 8,8 - 18	...	...
Sang	...	...	3,4 - 5,8
Foie	0 - 5,6	150 - 212	96 - 57
Rein	5 - 17,5	115 - 157	67 - 76
Poumon	3,9 - 12	125 - 139	85

En ce qui concerne le foie et le rein nos chiffres sont supérieurs à ceux d'ISAACS, mais très inférieurs à ceux de KING et STANTIAL et surtout à ceux de KING.

Dans le poumon, par contre, nous trouvons plus de silicium que les auteurs cités; les chiffres d'ISAACS en particulier sont 20 fois plus faibles que les nôtres.

Nos résultats concernant la teneur en silicium du sang du lapin sont supérieurs à ceux de KING et STANTIAL : nous trouvons plus de silicium dans le sang du lapin que dans le sang humain.

L'absence de silicium dans le cerveau du lapin, mise en évidence par nos chiffres, est en contradiction complète avec les résultats d'ISAACS : selon ce dernier, le cerveau est au contraire l'organe le plus riche en silicium. Notre résultat exigeait donc une confirmation. Aussi avons nous effectué de nouveaux dosages, soigneusement contrôlés, sur des prélèvements faits dans la masse de l'organe

et par conséquent parfaitement exempts de sang ou de membranes méningées. Voici, exprimés en mg de silicium par kilogramme de substance, les résultats que nous avons obtenus sur trois cerveaux provenant d'animaux différents :

Lapin n° 1 = 0

Lapin n° 2 = 1,5

Lapin n° 3 = 0

Nous avons alors procédé au contrôle de notre technique en appliquant au tissu cérébral la méthode des " quantités ajoutées ".

Expériences de contrôle

Au cerveau du lapin n° 1, nous avons ajouté du silicium dans les proportions de 5, 10, 20, 30 microgrammes par gramme. (Pour ce faire, nous avons ajouté au prélèvement, dans la capsule de platine 0,05 - 0,1 - 0,2 - 0,3 ml de la solution étalon de silicium contenant 100 micro-grammes de cet élément par ml).

Nous avons obtenu les résultats suivants :

<u>Silicium ajouté</u> (en mg par K de substance)	<u>Silicium trouvé</u> (en mg par K de substance)	<u>Erreur</u> (% Si ajouté)
5	4,6	- 8
10	9,1	- 9
20	18,6	- 7
30	27,6	- 9

Conclusion.-

Comme dans le cas de l'expérience de contrôle pratiquée sur le sérum, nos résultats sont entachés d'une erreur constante par défaut allant jusqu'à 9 p. 100. Ils demeurent cependant acceptables et confirment l'absence du silicium dans le cerveau du lapin.

2°) Dosage du silicium dans le cerveau et dans la
moelle épinière du boeuf

Nous avons dosé le silicium dans le cerveau et dans la moelle épinière dorsale de deux animaux différents. Voici nos résultats, exprimés comme précédemment en mg par kilogramme de substance.

:	:	:	:
:	Animaux	I	II
:	:	:	:
:	Cerveau	0	2
:	:	:	:
:	Moelle épinière:	I	0
:	:	:	:

Le cerveau et la moelle épinière du boeuf ne contiennent donc pas plus de silicium que le cerveau du lapin. Cet élément, lorsqu'il est présent, n'existe dans ces tissus qu'à l'état de traces infimes.

3°) Dosage du silicium dans un cerveau humain.

(Prélèvement fait à l'occasion de l'autopsie d'un sujet masculin âgé de 40 ans environ).

Résultat : Absence de silicium.

GONNERMANN (42), s'appuyant sur les résultats de ses devanciers, signalait la présence d'importantes quantités de silicium dans le cerveau humain.

BREED - cité par GORUP-BESANEZ (43) - a trouvé dans les cendres du cerveau 0,42 p. 100 de silice. Il dit par ailleurs que la proportion de cendres dans le cerveau est de 15 p. 1000. Tous calculs faits, les chiffres de BREED correspondent donc à 63 mg de silice soit 29 mg de silicium par kilogramme de substance.

KING, STANTIAL et DOLAN (62) signalent dans le cerveau du fœtus humain la présence de 220 mg de silice soit 102 mg de silicium par kilogramme de résidu sec. Le pourcentage de substance sèche dans le cerveau étant, d'après HUGOUNENQ (48) de 18,38 pour la substance grise et de 31,75 p. 100 pour la substance blanche, si l'on prend arbitrairement 25 p. 100 comme moyenne, les chiffres de KING, STANTIAL et DOLAN correspondent à 25,5 mg de silicium pour un kilogramme de substance brute.

Nous ne pouvons généraliser " a priori " le résultat de notre unique dosage de silicium dans le cerveau humain. De nouvelles recherches s'imposent mais il n'en reste pas moins que les résultats admis jusqu'à présent sont sans aucun doute à reconsidérer.

D - OEUF de POULE

Nos dosages ont porté sur l'albumen, le vitellus et la membrane coquillière de quatre oeufs frais provenant de quatre poules différentes.

L'albumen et le vitellus ont été prélevés à la pipette. Nous avons pris toutes les précautions nécessaires pour que le vitellus ne soit souillé d'aucune trace d'albumen ni d'aucun fragments de membrane vitelline. La membrane coquillière a été lavée très longuement sous un filet d'eau bidistillée pour la débarrasser de toute trace d'albumen, puis essorée dans un linge fin et pesée.

Les résultats obtenus, exprimés (par analogie avec ceux qui précèdent) en mg de silicium par kilogramme de substance, sont groupés dans le tableau suivant, où figure également le poids des prises d'essai sur lesquelles nous avons opéré :

Région	Albumen	Vitellus	Membrane Coquillière
Prise d'essai en g.	2	I	I
Ier dosage	6	0	9,5
2è dosage	8	0	13
3è dosage	5	I	II
4è dosage	9	0,5	15

Albumen			Vitellus		
POLECK		WEBER	POLECK		WEBER
I	II		I	II	
14,5	62	8,5	30	76,8	33,6

Nos chiffres présentent par rapport à ceux de POLECK et de WEBER une différence fondamentale, en ce qu'il font ressortir l'absence presque constante du silicium dans le vitellus de l'oeuf de poule. Ils confirment cependant sa présence en quantités relativement importantes dans l'albumen et la membrane coquillière.

Il eut été sans aucun doute fort intéressant d'étudier la répartition du silicium dans l'organisme du jeune poussin au moment de son éclosion, et de discuter les résultats de ce travail à la lumière des données embryologiques. Mais ainsi que nous l'avons dit dès le début de ce chapitre notre but n'était que de montrer par quelques exemples tout le parti que l'on peut tirer en biologie de notre méthode colorimétrique de dosage du silicium.

Chapitre VIII

APPLICATION MEDICO-LEGALE

DOSAGE ET LOCALISATION DU SILICIUM DANS LE POUMON

NORMAL ET SILICOTIQUE

La silicose est ainsi définie par le J.C. du 2 Septembre 1950 : " Fibrose pulmonaire consécutive à l'inhalation de poussières renfermant de la silice libre, lorsqu'il y a des signes radiographiques accompagnés de troubles (dyspnée et fréquemment bronchorrhée et toux) confirmés par des épreuves fonctionnelles de l'appareil respiratoire ".

En tant que maladie justiciable de réparation, cette affection pose souvent :

- I - le problème de la détection microscopique de la silice.
- 2 - celui de son dosage par les méthodes chimiques.

I) Détection microscopique

La technique microscopique commune présente de réelles difficultés - les particules minérales incluses dans les tissus

sont difficiles à observer et à identifier. La " micro-incinération des coupes " proposée par POLICARD (95-97) détruit la matière organique et rend la recherche microscopique beaucoup plus aisée. Voici, tirée de l'ouvrage de LISON (80) la description de cette technique.

(" 1° Les coupes à la paraffine sont déparaffinées au toluène, puis séchées; 2°- sur la coupe, on dépose une petite goutte d'acide perchlorique concentré, à 50 ou 60 p. 100; 3°- mettre une lamelle et chauffer avec précaution sur une platine chauffante vers 50 à 60°C; 4°- examiner au microscope après lutage de la préparation si c'est nécessaire; les matières organiques sont dissoutes et les particules minérales sont bien mises en évidence; ne pas les confondre avec les cristaux de perchlorate de potassium qui se produisent en même temps, ni avec des gouttelettes graisseuses en liberté ".

L'examen au microscope polarisant peut permettre de détecter dans les coupes soumises à la micro-incinération les particules de quartz qui conservent seules leur biréfringence après le traitement perchlorique.

Certaines méthodes physiques, telles que l' "histo-spectrographie " (POLICARD (95), GERLACH (38)) peuvent enfin être mises à profit.

Les renseignements qualitatifs apportés par ces méthodes sont de la plus haute importance puisque la nature chimique de la " roche " inhalée joue un rôle de premier plan dans l'étiologie de la silicose. Exception faite pour l'amiante (puisque le J.O. précité distingue l'asbestose de la silicose), on admet en effet que seuls la silice libre et certains silicates hydratés relativement peu répandus (séricite, sillimanite, muscovite....) sont en cause dans l'apparition de la maladie.

II) Dosage chimique

A - Dosage de la silice totale

Les méthodes pondérales ou colorimétriques habituelles conduisent à la détermination de la silice totale, mais ne permettent pas de distinguer dans le chiffre obtenu la part qui revient à la silice libre. Or l'application au tissu pulmonaire des méthodes utilisées dans l'industrie pour la détermination du quartz libre dans les roches ou les minerais (LINE et ARADINE (79), TROSTEL et WYNNE (116), GOLDMAN (41), FLORENTIN et HEROS (33), SAUZEAT (106), AUBRY et TURPIN (5) etc...) s'avère difficile; d'autant plus que, selon les auteurs eux même, il n'existe pas de procédé vraiment satisfaisant. Quant au dosage sélectif des quelques silicates hydratés susceptibles d'avoir joué un rôle nocif, il s'avère presque impraticable. Valables sur le plan quantitatif, les méthodes chimiques reconnaissent donc des limites du point de vue qualitatif.

Le dosage de la silice totale garde donc un grand intérêt dans le diagnostic post-mortem de la silicose. En effet le poumon silicotique renferme incontestablement plus de silice que le poumon normal. Selon POLICARD (96) un pourcentage de silice dans les cendres pulmonaires supérieur à 15 ou 20 pour cent " prouve le travail dans les poussières de la silice libre et la possibilité d'une silicose. Mais il ne permet pas d'affirmer l'existence de cette affection. L'histoire clinique du malade et la connaissance des phases de son activité demeurent les éléments essentiels d'un diagnostic posthume."

La vérification chimique peut se faire :

1 - ou bien sur un échantillon moyen préparé avec la totalité de la masse pulmonaire -

2 - ou bien, si les poumons sont en bon état de conservation, sur les échantillons moyens correspondant à chacun des lobes et hiles. Cette manière de faire apporte d'utiles renseignements sur la répartition de la silice.

3 - L'application de la méthode colorimétrique qui met en oeuvre quelques microgrammes de silicium pose des problèmes délicats d'homogénéisation et de prélèvement, qu'il nous a paru possible d'éluder en dosant le silicium par voie colorimétrique dans les cendres des échantillons moyens.

Mode opératoire

Mélanger intimement dans une caspule de platine 0,1 g de cendres exactement pesées, avec 2 g de carbonate acide de sodium. Après fusion complète et obtention d'un liquide limpide exempt de tout dégagement de bulles gazeuses, refroidir et reprendre en 4 fois par de l'eau distillée (10 ml chaque fois). Réunir les liquides dans un tube conique en pyrex et centrifuger 5 minutes à 3000 T.M. pour séparer l'hydroxyde ferrique. Décanter dans un ballon jaugé de 100 ml. Laver 2 fois le tube à centrifuger et le culot par 20 ml d'eau distillée. Centrifuger de nouveau, joindre le liquide de lavage au précédent. Compléter à 100 ml en ajoutant vers la fin 12 ml d'acide sulfurique 2 N (°).

(°) La quantité de silicium contenue dans la prise d'essai est importante et la reprise directe du produit de fusion alcaline par l'acide sulfurique 2 N risquerait de provoquer une floculation de silice gélatineuse.

Pour le dosage colorimétrique, opérer sur 5 ml de cette solution. Utiliser le mode opératoire décrit pour les eaux phosphatées (voir page 74). Augmenter ou diminuer cette prise d'essai (ou celle des cendres) suivant l'intensité de la coloration obtenue. Exprimer les résultats en silice ($O_2 Si$) conformément à l'usage.

I) Dosage de la silice totale dans des
poumons non silicotiques :

(Nous avons tout d'abord appliqué cette technique au do-
(-sage de la silice dans des poumons cliniquement sains. Ce travail pré-
(-sentait un réel intérêt pratique, puisque l'interprétation des résul-
(-tats obtenus dans les cas suspects implique la connaissance de la te-
(-neur " normale " en silice des poumons. Nous voulions en outre mettre
(à l'épreuve la technique proposée, pour nous rendre compte de sa valeur
((rapidité, exactitude) par comparaison avec une méthode pondérale.

Protocole suivi :

Après séparation et pesée des différentes régions pulmo-
-naires (lobes, hiles) nous avons constitué avec chacune d'elles, après
un hâchage soigné, un échantillon moyen de 50 g. Ce dernier a été dessé-
-ché à l'étuve, puis incinéré au four électrique. Après pesée et homogé-
-néisation du résidu minéral, nous en avons prélevé 0,1 g pour le dosage
colorimétrique de la silice. Sur le reste des cendres, nous avons prati-
-qué un dosage pondéral selon le procédé simplifié utilisé par LEULIER et
POLICARD (78) (°). Les chiffres obtenus, groupés dans les tableaux sui-
-vants, ont été rapportés dans les deux cas à la totalité de l'échantillon
moyen.

(°) En voici la description : Epuiser les cendres :

- par l'acide chlorhydrique bouillant (3 fois)
- par l'acide nitrique bouillant (3 fois)
- par l'eau régale bouillante (3 fois)

(Pour plus de commodité, effectuer ces opérations dans un tube à
(centrifuger taré. Peser le résidu après dessiccation. Le poids de ces
("cendres insolubles" correspond sensiblement selon LEULIER et POLICARD
((78) à la silice totale contenue dans la prise d'essai.

DOSAGE DE LA SILICE DANS LE POUMON DROIT

(M.B., 44 ans, charpentier, décédé à la suite d'une hémorragie
cérébrale)

Localisation du prélèvement	Lobe supérieur	Lobe moyen	Lobe inférieur	Région du hile
Poids de la région en g.	160	54	251	76
Dosages effectués sur l'échantillon moyen de 50 g.				
Cendres en mg	523	417	402	592
"Cendres insolubles" en mg (comptés comme silice par LEULIER et POLICARD)	18	10,6	6	24
Silice dosée par colori- -métrie dans ces cendres insolubles, en mg.	15,5	9,3	5,25	19
Pourcentage de silice dans les cendres insolu- -bles	86,1	87,7	87,5	79,1
Silice dosée par colori- -métrie sur les cendres brutes, en mg	17,1	9,5	6,1	19,3
Pourcentage de silice dans les cendres brutes	3,2	2,2	1,5	3,2
Silice totale en mg rap- -portée à la totalité de la région pulmonaire envisagée	54,7	10,2	30,6	30,5
Silice totale en mg con- -tenue dans la totalité du poumon	126,0			

DOSAGE DE LA SILICE DANS LE POU MON GAUCHE

Localisation du prélèvement	Lobe supérieur	Lobe inférieur	Région du hile
Poids de la région, en g.	129	220	68
Dosages effectués sur l'échantillon moyen de 50 g.			
Cendres en mg	424	379	478
Cendres insolubles en mg (comptées comme silice par LEULIER & POLICARD)	21	9	29
Silice dosée par colorimétrie dans ces cendres insolubles, en mg	19,5	8	23
Pourcentage de silice dans les cendres insolubles	92,8	88,8	79,3
Silice dosée par colorimétrie sur les cendres brutes, en mg	21,1	8,1	23,6
Pourcentage de silice dans les cendres brutes	4,9	2,1	4,8
Silice totale en mg rapportée à la totalité de la région pulmonaire envisagée	54,4	35,6	32
Silice totale en mg contenue dans la totalité du poumon	1 2 2, 0		

Interprétation

Les résultats ci-dessus concordent dans l'ensemble avec ceux publiés notamment par ANTOINE (4) qui utilisait la méthode nitro-sulfo-perchlorique de KAHANE (52) pour détruire la matière organique et insolubiliser la silice.

Dans le cas envisagé, les lobes inférieurs renferment incontestablement beaucoup moins de silice que les lobes supérieurs; la région avoisinant le hile, au contraire, est très riche en silice.

Quelques remarques d'ordre technique s'imposent :

a) Les chiffres obtenus par la méthode simplifiée de LEULIER et POLICARD sont plus forts que ceux obtenus par la méthode colorimétrique. L'excès des premiers sur les seconds se situe généralement aux environs de 12 p. 100 et atteint rarement 20 p. 100.

b) Le dosage colorimétrique de la silice, pratiqué sur les " cendres insolubles " conduit à des résultats légèrement plus faibles que si l'on opère sur les cendres brutes. Ce fait peut s'expliquer par les pertes possibles au cours des nombreuses manipulations conduisant à l'obtention de ces " cendres insolubles ".

c) Sur le plan pratique, la méthode colorimétrique présente des avantages considérables : les dosages peuvent être pratiqués en série et sont ainsi trois ou quatre fois plus rapides que par voie pondérale. Quant aux résultats obtenus, ils sont beaucoup plus exacts puisqu'ils sont déterminés avec une parfaite sélectivité.

Sans doute nos résultats auraient-ils été plus proches de ceux obtenus par colorimétrie si au lieu de la méthode simplifiée de LEULIER et POLICARD nous avions utilisé la méthode pondérale classique;

mais la durée des manipulations aurait été très longue. Aussi la méthode colorimétrique semble bien être la méthode de choix.

2) - Dosage de la silice totale dans des poumons
présumés silicotiques

(L'origine des poumons sur lesquels ont été pratiqués les dosages ci-dessous sera longuement décrite au paragraphe relatif à la localisation de la silice (voir page 131). C'est afin de permettre leur comparaison plus facile avec ceux de l'analyse des poumons sains que nous faisons figurer ici, sous forme de tableaux, les résultats obtenus.

Remarque : Le tissu pulmonaire ayant été conservé dans l'alcool, il eut été sans intérêt de rapporter le poids du silicium trouvé au poids brut du prélèvement : il était nécessaire d'établir le " poids sec " des échantillons prélevés, pour lui rapporter le résultat des dosages. Ce qui rend plus difficile mais laisse cependant possible la confrontation des chiffres que nous voudrions permettre.

Nous avons procédé au dosage de la silice totale :

1°) dans chacune des régions du poumon gauche,

2°) dans la totalité du poumon droit; en suivant le mode opératoire décrit page 3.

I°) Dosage de la silice dans les différentes régions
du poumon gauche.

Chaque région, pesée après égouttage, a été soumise à un hâchage mécanique prolongé, et nous avons prélevé un échantillon moyen de 50 g de tissu homogénéisé. Après dessication à l'étuve pour établissement du " poids sec ", la substance a été incinérée au four électrique dans une capsule de platine. Après pesée, les cendres ont été soumises à l'analyse dont voici les résultats :

DOSAGE DE LA SILICE DANS LE POU MON GAUCHE

Localisation du prélèvement	Lobe supérieur	Lobe inférieur	Région du hile
Poids de la région en g après égouttage	155	242	55
Dosages effectués sur un échantillon moyen de	50 g	50 g	25 g
Poids sec de l'échantillon moyen, en g.	8,5	7,1	5,4
Cendres en mg	440	327	347
Silice dosée par colorimé- -trie en mg	61	36	62
Pourcentage de silice dans les cendres	13,8	11,0	17,8
Silice en mg pour 1 g de substance sèche	7,1	5	11,5
Silice en mg pour la tota- -lité de la région pulmo- -naire	189	174	136
Silice en mg pour la tota- -lité du poumon	4 9 9		

2°) Dosage de la silice dans la totalité du poumon droit

Poids total du viscère (après égouttage) : 565 g.

ainsi répartis :

(- lobe supérieur	=	142 g.
(- lobe moyen	=	61 g.
(- lobe inférieur	=	282 g.
(- région du hile	=	80 g.

Les différentes régions réunies ont été hâchées mécaniquement jusqu'à homogénéisation de l'ensemble.

Nous avons ensuite prélevé deux échantillons moyens de 50 g. chacun.

a) l'un destiné au dosage colorimétrique de la silice totale après incinération.

b) l'autre destiné au dosage de la silice totale par la méthode pondérale classique.

Le tableau suivant rassemble les résultats des deux dosages et permet leur comparaison :

Dosage de la silice dans le poumon droit

Méthode employée	Dosage colorimétrique	Dosage pondéral (Méthode classique)
Poids sec de l'échantillon moyen.	10,5 g	10,0 g
Cendres.....	0,524 g	0,496 g
Silice totale.....	0,069 g	0,074 g
Pourcentage de silice dans les cendres.....	13,1 g	14,9 g
Silice par gramme de tissu sec...	0,0066 g	0,0074 g
Silice pour la totalité du poumon:	0,780 g	0,836 g

Interprétation

De l'examen des chiffres rassemblés dans les deux tableaux précédents, il ressort en particulier que le pourcentage de silice dans les cendres, est dans tous les cas supérieur à 10 et se situe en moyenne au voisinage de 13. Sans être en désaccord avec l'hypothèse d'une silicose pulmonaire, les résultats obtenus n'apportent cependant pas (contrairement à notre attente après lecture du rapport d'autopsie (voir page 131)) la " preuve chimique " formelle de l'existence de cette affection.

Cette preuve (si tant est que l'on puisse s'exprimer ainsi sans considération attentive des observations cliniques) est au contraire fournie d'une manière incontestable par le dosage suivant :

3°) Dosage de la silice dans un poumon silicotique

(X..., ouvrier du fond des mines de Saint-Etienne)

La pièce anatomique (fournie par Mr le Dr MULLER en février 1949) est en état de décomposition avancée (séjour de 3 mois environ en bocal fermé au liège) sans aucun antiseptique ni liquide conservateur).

La distinction des différentes régions pulmonaires étant très malaisée, nous avons constitué un échantillon moyen avec la totalité du viscère.

RESULTATS

- Poids de l'échantillon moyen humide
(après égouttage)..... 150 g
- Cendres totales..... 2,04 g
- Cendres "insolubles"
(obtenues par la méthode de
LEULIER et POLICARD et comptées
comme silice par ces auteurs)..... 0,715 g
- Silice totale
(dosée par la méthode colori-
-métrique proposée)..... 0,591 g
- Pourcentage "de silice dans les
cendres insolubles..... 82,6 ~~g~~
- Pourcentage de silice dans les
cendres totales 28,9
- Silice totale rapportée à 100 g de
substance " fraîche "..... 0,394 g
- Silice totale, rapportée à la totalité
du poumon (390 g)..... 1,537 g

L'interprétation de ces chiffres est immédiate.

Le pourcentage de silice dans les cendres pulmonaires
(29,8) confirme pleinement l'hypothèse de silicose. Bien plus : un tel
résultat conduirait à émettre cette hypothèse même en l'ignorance des
observations cliniques et histologiques.

B - Localisation de la silice

La méthode colorimétrique est assez sensible pour permettre d'aborder un problème capital : celui de la localisation de la silice dans le tissu pulmonaire. Des prélèvements de l'ordre du décigramme, faits aux points jugés suspects par le médecin légiste ou le spécialiste chargé de l'examen anatomo-pathologique, peuvent suffire. Les résultats des microdosages seront utilement confrontés avec les observations histologiques et les compléteront.

A titre d'exercice nous avons effectué un travail de ce genre sur des poumons présumés silicotiques, prélevés à l'autopsie d'un ouvrier de fond de mines de Saint-Etienne. Toutes les pièces, conservées dans l'alcool, étaient en parfait état de conservation. Nous extrayons du rapport d'autopsie du Dr MULLER les données suivantes :

(a) Le poumon droit, entier, d'aspect général gris noirâtre présente dans l'ensemble de sa masse de nombreux nodules noirs et durs, " criant " parfois sous le bistouri, d'apparence silicotique.

(La base droite présente une formation d'allure tumorale. L'aspect de la coupe semble indiquer qu'il s'agit d'un tissu cicatriciel. Homogène et blanchâtre dans son ensemble, ce tissu est marbré de quelques traînées et taches noires. Il est macroscopiquement impossible, même en s'aidant du palper, d'identifier des nodules dans ce tissu de consistance ferme.

(Le sommet droit présente une très grosse caverne tuberculeuse ouverte, à parois anfractueuses renfermant quelques nodules.

(b) Le poumon gauche, entier, apparaît au palper "truffé" de nodules durs et présente quelques tubercules.

(La zone axillaire du lobe inférieur présente une masse
(blanchâtre apparemment constituée par un tissu cicatriciel.
(

(Le lobe supérieur présente également une masse anormale
(d'aspect analogue à la précédente et correspondant peut-être, comme
(elle, à une cicatrice d'infarctus.
(

(c) Les ganglions hilaires présentent une coupe uniformément
(noire et leur intérieur possède une consistance terreuse.

La tuberculose ne faisant aucun doute, il importait de savoir si oui ou non le malade était porteur de lésions silicotiques ou de fibrose pseudo-coniotiques.

Parallèlement aux examens histologiques, l'expert ne demandait formellement qu'un dosage " global " de la silice. - Les résultats de ce dosage ont été donnés dans les pages précédentes et confirment une imprégnation importante. Ils nous ont conduit aux conclusions formulées page 129. Mais nous avons jugé opportun d'aller plus loin et d'effectuer au moyen de la méthode dont nous venions d'achever la mise au point, l' " étude fine " de la localisation de la silice.

Protocole suivi : Les poumons droit et gauche ont été fragmentés au bistouri et aux ciseaux en distinguant pour chacun d'eux les différents lobes et la région du hile. Un certain nombre de fragments de tissu d'un poids moyen de l'ordre du décigramme ont été prélevés

- soit dans la masse de chacune des régions,

- soit en des points particuliers qui avaient attiré notre attention lors de la reconnaissance des pièces anatomiques, ou qui nous étaient signalés dans le rapport du médecin légiste. Comme précédemment, et pour la même raison (voir page 125) le poids de silice

trouvé a été rapporté au poids sec.

Les tableaux suivants indiquent la nature des prélè-
-vements effectués et rassemblent les résultats obtenus.

LOCALISATION DE LA SILICE DANS LE POUMON DROIT

Objet de prélèvement	Poids sec en mg	Silicium en mg	Silice (Si O ²) en mg par g. de tissu sec
Lobe supérieur du poumon droit (dans la masse)	104	0,25	5,2
Parois de la caverne du sommet droit	122	1,65	28,9
Nodules durs prélevés dans ces parois	125	2,22	38
Lobe moyen du poumon droit (dans la masse)	125	1,92	4,1
Lobe inférieur du poumon droit (dans la masse)	90	0,16	3,9
Région hilare du poumon droit	132	0,66	10,7
Masse " pseudo-tumorale " de la base droite, dans le tissu cicatriciel blanchâtre	131	0,10	1,7
Zones noires de la masse pseudo-tumorale de la base droite	110	0,92	18

LOCALISATION DE LA SILICE DANS LE POUMON GAUCHE

Objet de prélèvement	Poids sec en mg	Silicium en mg	Silice (Si O ₂) en mg par g de tissu sec
Lobe supérieur du poumon gauche (dans la masse)	99	0,28	6,0
Lobe inférieur du poumon gauche (dans la masse)	97	0,22	4,7
Région du hile du poumon gauche	138	0,925	14,4
Nodules durs du lobe supérieur	110	1,25	24,2
Nodules contenus dans la masse apparemment cicatri- -cielle, de la zone axil- -laire du lobe inférieur	122,5	0,80	13,9
Fragment d'un ganglion hilaire interbronchique	156	1,28	17,6
Substance d'apparence char- -bonneuse contenue dans un ganglion interbronchique	194	2,00	22
Paroi du ganglion interbronchique	144	0,96	14

La discussion du résultat des examens histologiques à la lumière de ces chiffres, bien que du plus haut intérêt n'est pas de notre domaine : nous désirions seulement montrer que l'étude quantitative de la localisation de la silice est possible, grâce à notre méthode, sur des prélèvements de l'ordre de ceux que fournissent les biopsies.

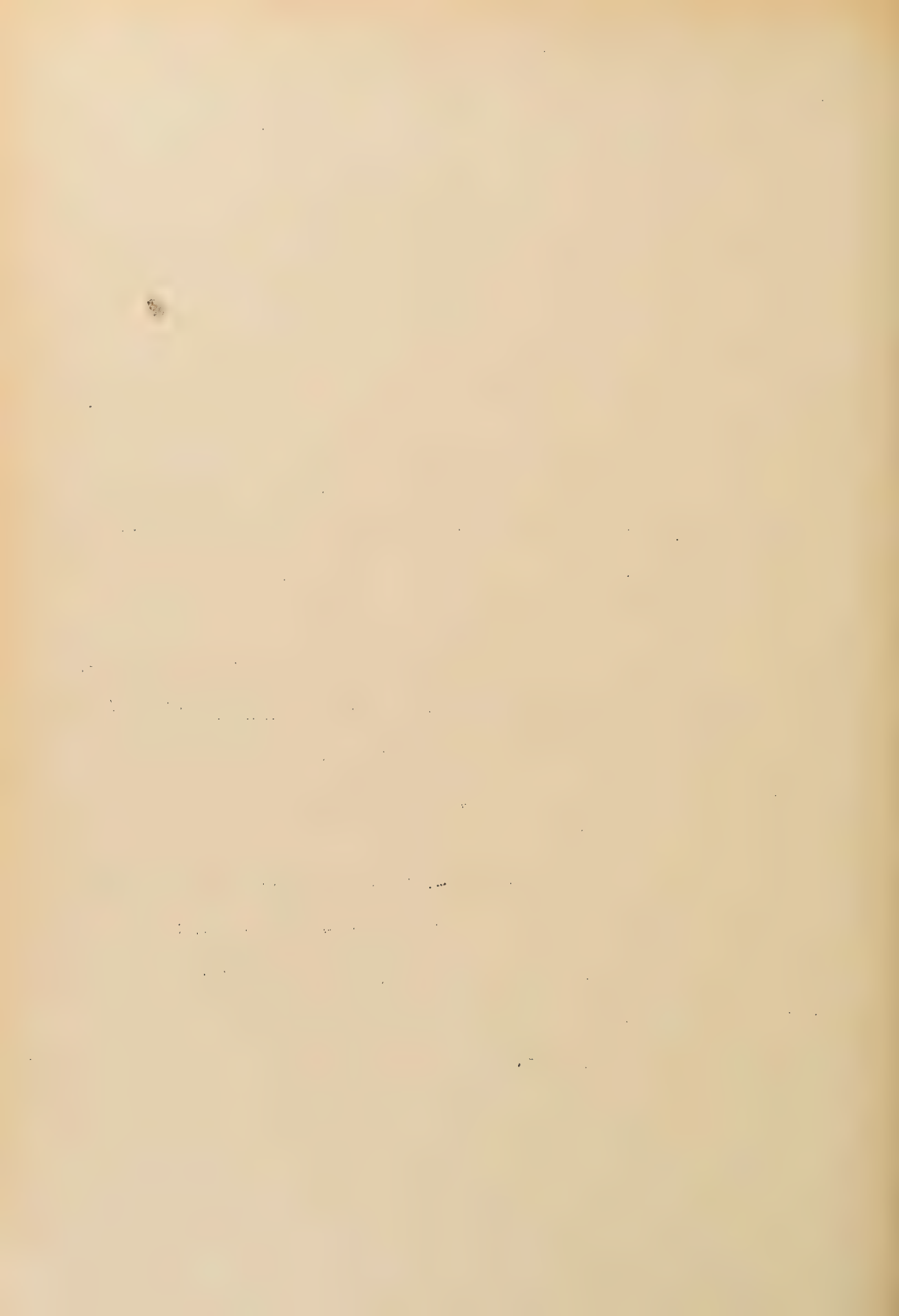
Mais, plus encore que les problèmes de l'expertise médico-légale, il est bien évident que le micro-dosage proposé permettra de résoudre, sur le plan quantitatif, ceux que pose l'étude de la biologie du silicium.

C O N C L U S I O N S

I - Aucune des méthodes proposées jusqu'à présent pour le dosage du silicium dans les milieux biologiques n'est entièrement satisfaisante.

2 - Les mieux adaptées à cette fin sont incontestablement les méthodes colorimétriques. Les plus sensibles sont celles fondées sur la réduction du complexe silico-molybdique; nous avons étudié les conditions de leur spécificité.

3 - L'analyse des milieux biologiques implique avant tout une destruction de la matière organique. Nous avons fait une étude critique de la calcination en présence de carbonate acide de sodium (PARRI & SCOTTI) et indiqué les précautions à prendre pour que le dosage ultérieur soit correct.



4 - Plusieurs facteurs négligés jusqu'à présent et qui ont cependant une importance fondamentale (acidité ionique du milieu réactionnel, température, durée d'action des réactifs, etc...) ont été étudiés de façon systématique.

5 - L'influence perturbatrice de certains éléments (Phosphore, Fer, Fluor, etc...) a été étudiée de la même façon.

6 - Un mode opératoire éliminant toutes les causes d'erreurs et permettant un dosage sur quelques micro-grammes de silicium dans des prélèvements de l'ordre du gramme, a été proposé et justifié. L'erreur inévitable est de 5 % environ.

7 - Dans une deuxième partie, sont indiquées quelques applications de ce microdosage; l'analyse des eaux minérales devient possible sur des prises d'essai de quelques millilitres et donne des résultats tout aussi exacts que l'analyse pondérale avec un gain de temps considérable (le dosage est environ 5 fois plus rapide).

8 - L'analyse du sang et des divers tissus et organes montre que la plupart des résultats anciens sont discutables. D'après nos propres dosages les teneurs moyennes en silicium du sang total, des érythrocytes, et du plasma ou du sérum sont respectivement de 6,3 8,8 et 4,6 mg par litre.

9 - La teneur des urines en silicium est variable et dépend du mode d'alimentation; elle est augmentée par l'ingestion des silicates alcalins ou de silice amorphe préparée par voie chimique, sauf si cette dernière a été calcinée.

10 - Dans le tissu nerveux, où certains auteurs ont annoncé l'existence de quantités importantes de silicium, cet élément - selon nous - est absent ou n'existe qu'à l'état de traces.

11 - Il en est de même dans le vitellus de l'oeuf de poule, tandis que l'albumine en renferme en moyenne 7 mg pour 1000, et la coquille, environ deux fois plus.

12 - La méthode colorimétrique est assez sensible pour permettre d'aborder le problème de la localisation du silicium; nous en donnons un exemple dans le cas de l'expertise médico-légale en matière de silicose.

Le Président de la Thèse,

A. LEULLIER

Vu:

Le Doyen,

H. HERMANN

Vu et permis d'imprimer:

LYON, le 30 Avril 1953

Pour le Recteur et par Délégation,

Le Vice-Président du Conseil de l'Université,

NICOLAS



- BIBLIOGRAPHIE -

(Les pages de la Thèse, où il est fait mention des auteurs ci-dessous, sont indiquées entre parenthèses après chaque référence).

- 1 - ABELOUS (J.E.) et ALOY (J.)
- C.R. Acad. Sc.- 1919, 168, pp. 1125 - 1128.
- Travaux inédits (en collab. avec LALAURIE) cités par
BOUDARD (J.) (11).
(18).
- 2 - ADAMS (M.F.) - Determination of small amounts of Silica.-
- Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.- 1945, 17, pp. 542 - 543.
(26).
- 3 - ANTOINE (G.) - Sur la présence de particules siliceuses dans
les tissus animaux.- C.R. Acad. Sc.- 1935, 200, pp. 980 - 982.
(16, 17).
- 4 - ANTOINE (G.) - Recherches sur le sort des poussières dans
l'organisme.- III : Répartition des particules siliceuses
dans les poumons.- Journ. Pharm. et Chim.- 1935, 22,
pp. 412 - 430.
(124).
- 5 - AUBRY (J.) et TURPIN (G.) - Détermination du quartz libre dans
les minerais de fer de Lorraine.- Rev. Mét.- 1950, 47,
pp. 146 - 147.
(119).

- 6 - BARLIER (M.) - Contribution à l'étude toxicologique de quelques dérivés organiques du silicium.- Thèse doct. Pharm.- Lyon, 1948.
(39).
- 7 - BARTH (J.) - La fréquence du cancer et la nature du sol et des eaux en Suisse.- Journ. de Méd. et Chir. prat.- 1915, 86, p. 235.- (cité par LERICHE (J.) (77)).
(18).
- 8 - BELL (R.D.) et DOISY (E.A.) - Rapid colorimetric method for the determination of phosphorus in urine and blood.- Journ. of biol. Chem.- 1920, 44, pp. 55 - 67.
(58).
- 9 - BODNAR (J.) et TOROK (T.) - Photometrische Bestimmung der Kieselsäure in biologischen Substanzen.- Zeitschr. f. physiol. Chem.- 1939, 261, pp. 257 - 268.
(15, 28, 31, 34, 39, 99).
- 10 - BOLTZ (D.T.) et MELLON (M.G.) - Determination of Phosphorus, Germanium, Silicon and Arsenic by the heteropoly Blue Method.- Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.- 1947, 19, pp. 873 - 877.
(29, 34).
- 11 - BOUDARD (J.) - La silice, son rôle biologique, ses applications thérapeutiques.- Thèse doct. Méd., Toulouse, 1919.
(18).
- 12 - BOYLE (A.J.) et HUGHEY (V.V.) - Photometric estimation of Si in Mg and Mg Alloys.- 1943, 15, pp. 618 - 619.
(29, 31).
- 13 - BRABSON (J.A.), MATTHEW (H.C.), MAXWELL (G.E.), DARROW (A.), et NEEDHAM (M.F.) - Determination of Silica in the presence of Fluorine and Phosphorus.- Analyt. Chem. 1948, 20, pp. 504-510.
(32).
- 14 - BRIGGS (A.P.) - A modification of the Bell-Doisy phosphate method.- J. of biol. Chem.- 1922, 53, pp. 13 - 16.
(58).

- 15 - BUNGE (G.) -
- Lehrbuch der biolog. Chemie.- F.C.W. Vogel éd.,
Leipzig, 1896, - p. 27.
- Lehrbuch der Physiologie der Menschen.- F.C.W. Vogel
éd., Leipzig, 1903 - 1905 (2 vol.), pp. 16, 17, 149.
- Lehrbuch der biologischer und pathologischer Chemie.-
- F.C.W. Vogel éd., Leipzig, 1898, p. 26.
(18).
- 16 - CERNY (C.) - Zur Frage des Vorkommens von Kieselsäure in Orga-
-nismus.- Zeitschr. f. physiol. Chem.- 1909, 62, pp. 296 - 314.
(17).
- 17 - CHAMABON (M.) - Dosage de l'oxyde de carbone dans l'air; modifica-
-tion à la méthode de M. Nicloux.- Lyon Pharmaceutique - 1942
(Mai-Juin); pp. 83 - 85.
(48).
- 18 - CHARLOT (G.) et BEZIER (D.) - Analyse quantitative minérale.-
Masson éd., Paris, 1948.- pp. 571 - 580.
(24, 33).
- 19 - CHARLOT (G.) et GAUGUIN (R.) - Dosages colorimétriques (Princi-
-pes et Méthodes).- Masson éd., Paris, 1952.- pp. 212 - 217.
(32, 56, 94).
- 20 - CHARNOT (A.) - Doct. ès Sciences Nat., Pharmacien, Chef des Labo-
-ratoires de Toxicologie et de Chimie biologique de l'Institut
d'Hygiène du Maroc - Travaux inédits.
(48).
- 21 - CHEVALLIER (J.) - La Prêle et la médication silicique.- Bull.
soc. Thérap.- 1927 (n°5), p. 129.
(18).
- 22 - CLOGNE (R.) et DRILHON (A.) - Etude physico-chimique des eaux
du Mont-Dore.- Annales de l'Inst. d'Hydrol. et Climatol.-
- 1932, 8, pp. 121 - 124.
(78).
- 23 - CLUZET, NOGIER, KOFFMAN, FLORENCE, MORET, PIERY et MILHAUD - Les
eaux minérales et la cure de Saint-Gervais.- Annales de l'Inst.
d'Hydrol. et Climatol.- 1935, 10, pp. 93 - 133.
(79).

- 24 - DEEDS (F.) et EDDY (C.) - The microdetermination of Silicon.-
Journ. of biol. Chem.- 1936, 114, pp. 667 - 672.
(34, 39).
- 25 - DENIS (W.) et MEYSENBUG (L. Von) - A possible source of error in
the Bell-Doisy method for the determination of phosphates in
blood plasma.- Journ. of biol. Chem.- 1922, 52, pp. 1 - 3.
(29).
- 26 - DIENERT (F.) et WANDENBULCKE (F.) - Sur le dosage de la silice
dans les eaux.-
- C.R. Acad. Sc.- 1923, 176, pp. 1478 - 1480.
- Bull. soc. chim. Fr.- 1923, 33, pp. 1131 - 1140.
(31, 33, 35, 36, 55, 67, 70, 73, 76).
- 27 - DRECHSEL (E.) - Zentralblatt f. Physiol.- 1898, 11, p. 361.
(17).
- 28 - DUCLAUX (J.) - La chimie de la matière vivante : la Catalyse.-
- Alcan éd., Paris, 1910, - p. 158.
(18).
- 29 - DUPASQUIER - cité par DURAND - FARDEL (30), p. 106.
(78).
- 30 - DURAND - FARDEL (M.) - Traité thérapeutique des Eaux Minérales
de France et de l'étranger, et de leur emploi dans les
maladies chroniques.- Baillière éd., Paris, 1857.
(142, 143, 146, 148).
- 31 - DUVAL (C.) - Analyt. Chim. Acta.- 1947, I, pp. 33 - 37.
(42).
- 32 - FABRE (R.) - Rapport présenté à l'Acad. de Méd. le 28 Juillet 1942.
- in : Annales de l'Inst. d'Hydrol. et Climatol.- 1942, 14,
pp. 173.
(79).
- 33 - FLORENTIN (D.) et HEROS (M.) - Dosage de la silice libre (quartz)
dans les silicates.- Bull. soc. chim. Fr.- 1947, pp. 213 - 215.
(119).

- 34 - FRANCK (H.) et GERSTEL (G.) - Ueber den Kieselsäuregehalt des Blutes, zugleich zur Mikrokieselsäurebestimmung in der Blutassche nach Kraut.- Zeitschr. f. physiol. Chem.- 1938, 253, pp. 225 - 230.
(15, 101).
- 35 - FRAUENBERGER (F.) - Zeitschr. f. physiol. Chem.- 1908, 57, pp. 17 - 20.
(17).
- 36 - GAUBE du GERS - Cours de minéralogie biologique - (4 vol.) - - Maloine éd., Paris, 1899 - 1899 - 1901 - 1903.
(14, 18).
- 37 - GETTLER (A.O.) et UMBERGER (C.S.) - Amer. Soc. clin. Path. (Tech. Sect.).- 1945, 15, pp. 1 - 3.
(15, 29, 34).
- 38 - GERLACH (W. et W.) :
- Die chemische Emissionsspektralanalyse.- Anwendung in Medizin, Chemie und Mineralogie.- Voss éd., Leipzig, 1933.
- Der elementar Nachweisen Gewebe.- Virch. Arch.- 1931, 282, p. 208.
(118).
- 39 - GLENARD - cité par DURAND-FARDEL (30), p. 232.
(79).
- 40 - GOHR (H.) et SCHOLL (O.) - Untersuchungen über eine Kolorimetrische Mikrobestimmung, zur Erfassung von kleinsten Mengen Kieselsäure in Blut und Harn, und ihre Anwendung in der Lungenklinik.- Beiträge zur Klinik der Tuberkulose.- 1949, 102, pp. 29 - 37.
(15, 23, 28, 31, 34, 40, 102).
- 41 - GOLDMAN (F.H.) - Method for the determination of Quartz in industrial dusts.- Pub. Health Reports.- 1937, 52, pp. 1702 - 1712.
(119).
- 42 - GONNERMANN (M.) - Beiträge zur Kenntnis der Biochemie der Kieselsäure.-
- Zeitschr. f. physiol. Chem.- 1917, 99, pp. 255 - 296.
- Zeitschr. f. physiol. Chem.- 1918, 102, pp. 78 - 84.
- Biochem. Zeitschr.- 1918, 88, pp. 401 - 419.
- Biochem. Zeitschr.- 1919, 95, pp. 286 - 295.
- Zeitschr. f. physiol. Chem.- 1920, 111, pp. 32 - 35.
(14, 15, 17, 18, 21, 101, 113).

- 43 - GORUP-BESANEZ (E.F. Von) -
- Lehrbuch der physiologischen Chemie.- Vieweg éd.,
Braunschweig, 1874.
- Annalen d. Chem. u. Pharm.- 1847, 61, pp. 46 - 53
- Annalen d. Chem. u. Pharm.- 1848, 66, pp. 321 - 342.
(14, 18, 21, 113, 115).
- 44 - HENNEBERG (W.) -
- Annalen d. Chem. u. Pharm.- 1847, 61, pp. 255 - 261.
(14).
- 45 - HESSE (E.) et MEISSNER (G.) - Klin. Woch.- 1935, 14, p. 1464.
(19).
- 46 - HOIZAPFEL (L.) et KERNER-ESSER (I.) -
- Naturwissenschaften - 1943, 31, p. 386.
(17).
- 47 - HOPPE-SEYLER (F.) - Lehrbuch der physiol. Chemie.- Hirschwald
éd., Berlin, 1881.
(14).
- 48 - HUGOUNENQ (L.) - Précis de Chim. physiol. et pathol.- Doin
éd., Paris, 1921.- p. 455.
(113).
- 49 - HURE (J.) et ORTHIS (Th.) - Dosage colorimétrique de la silice
en présence de phosphates et d'arséniates.- Bull. soc. chim.
Fr.- 1949, pp. 834 - 835.
(28, 32, 36, 46).
- 50 - INSTITUT D'HYDROLOGIE ET DE CLIMATOLOGIE (Collège de France).
- Analyse des eaux thermales de Vichy - Ann. de l'Insti-
-tut d'Hydrol. et Climatol.- 1925, 3, pp. 157 - 221.
- Analyse des eaux minérales de quelques stations des
Alpes - Ann. de l'Inst. d'Hydrol. et Climatol. - 1930, 7,
pp. 1 - 64.
- Analyse des eaux minérales de Vittel et de Contrexéville -
- Ann. de l'Inst. d'Hydrol. et Climatol.- 1935, 10, pp. 1 - 41.
- Analyse des eaux minérales de Royat - Ann. de l'Inst.
d'Hydrol. et Climatol.- 1939, 12, pp. 241 - 288.
- Analyse des eaux minérales de Chatelguyon - Ann. de l'Inst.
d'Hydrol. et Climatol.- 1943, 15, pp. 1 - 54.
(78, 79).

- 51 - ISAACS (M.L.) - Sur la présence du silicium dans les tissus. Une micro-méthode de dosage du silicium.-
- Bull. soc. chim. biol.- 1924, 6, pp. 157 - 168.
- Med. Bull. of the Univ. of Cincinnati.- 1923, 2, 23.
(14, 17, 18, 29, 34, 35, 37; 46, 84, 109).
- 52 - KAHANE (E.) - Recherches sur le sort des poussières dans l'organisme : II - Technique de dosage des particules siliceuses et des particules de charbon dans les poumons.- Journ. Pharm. et Chim.- 1935, 22, pp. 204 - 211.
(23, 24, 124).
- 53 - KAHANE (E.) et ANTOINE (G.) - Sur la nature de la silice chez les êtres vivants : Silice de constitution et silice d'interposition.- Bull. soc. chim. biol.- 1936, 18, pp. 1769 - 1782.
(16, 23).
- 54 - KAHANE (E.) et KAHANE (M.) - Nouvelles recherches sur le dosage de la silice.- Bull. soc. chim. biol.- 1933, 15, pp. 805-813.
(23, 24).
- 55 - KAHLER (H.L.) - Determination of soluble Silica in Water.- Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.- 1941, 13, pp. 536 - 539.
(34).
- 56 - KALL (F.) - Die Kieselsäure in tierischen und menschlichen Organismen.- Inaugural Dissertation, Würzburg, 1898.
(14, 18).
- 57 - KING (E.J.) -
- The estimation of Silica in tissues.-
- Journ. of biol. Chem.- 1928, 80, pp. 25 - 31.
- La méthode colorimétrique de dosage du silicium.-
- Bull. soc. chim. biol.- 1930, 12, pp. 903 - 909.
(15, 28, 31, 34, 36, 38, 46, 84).
- 58 - KING (E.J.) et WATSON (J.L.) - Salts of silicomolybdic acid with organic bases : the gravimetric determination of small amounts of Silica as pyramidone silicomolybdate.- Mikrochem.- 1936, 20, pp. 49 - 56.
(25, 109).
- 59 - KING (E.J.) et GEORGES (M.) - The biochemistry of silicic acid. VI : The solution and excretion of silica.- Biochem. Journ.- 1938, 32, pp. 417 - 433.
(16).

- 60 - KING (E.J.) et LUCAS (C.C.) - Use of picric acid as a artificial standard in the colorimetric estimation of Silica.- Journ. of Amer. Chem. Soc.- 1928, 50, pp. 2395 - 2397.
(65).
- 61 - KING (E.J.) et STANTIAL (H.) - The biochemistry of silicic acid.
I : Microdetermination of Silica.- Biochem. Journ.- 1933, 27, pp. 990 - 1001.
(15, 28, 31, 34, 38, 39, 46, 102, 109).
- 62 - KING (E.J.), STANTIAL (H.) et DOLAN (M.) - The biochemistry of silicic acid. II : The presence of silica in tissues.-
III: The excretion of administered silica.-
- Biochem. Journ.- 1933, 27, pp. 1002 - 1014.
(15, 16, 101, 106, 113).
- 63 - KITAJIMA (S.) - Determination of silicic acid by a volumetric method.- Bull. Chem. Soc. Japan.- 1935, 10, pp. 341 - 345.
(41).
- 64 - KOBERT (R.) - Archives internationales de Pharm. et de Thérap. -
- 1901, 9, p. 285.
(19).
- 65 - KOLB (C.) - Le cancer dans l'Allemagne du Sud.- Journ. de Méd. et Chir. prat.- 1903, 74, pp. 634 - 635. (in LERICHE (J.) (77)).
(18).
- 66 - KRAUT (H.) - Ueber den Kieselsäuregehalt des menschlichen Blutes und seine Veränderung durch Kieselsäurezufuhr.- Zeitschr. f. physiol. Chem.- 1931, 194, pp. 81 - 97.
(15, 22, 23, 24).
- 67 - KRAUT (H.) et WEBER (M.) - Die Bestimmung der Kieselsäure im Blut.- Zeitschr. f. physiol. Chem.- 1942, 275, pp. 127 - 134.
(15, 23, 29, 31, 34).
- 68 - KUNKEL (A.J.) - Sitzungsber. der physical. - med. Gesellsch. zu Würzburg.- 1898, p. 75.
(14, 18, 21).

- 69 - KVIST (T.) - Ueber die Bestimmung von Kieselsäure in Quarziten, durch Anbrauchen mit Fluorwasserstoffsäure.- Zeitschr. f. anal. Chem.- 1938, 114, pp. 21 - 26.
(22, 23).
- 70 - LADENBURG (A.) - Berichte der deutsch. Chem. Gesellschaft.- 1872, 5, pp. 568 - 569.
(17).
- 71 - LANGE (B.) - Analyse colorimétrique.- Dunod éd., Paris, 1947, p. 242.
(34).
- 72 - LASSIEUR (A.) - Analyse des silicates phosphatés.- Ann. Chim. anal.- 1954, 16, pp. 197 - 202.
(28).
- 73 - LEFORT - cité par DURAND-FARDEL (30), p. 187.
(78).
- 74 - LEMATTE (L.), BOINOT (G.) et KAHANE (E.) - Recherches sur le dosage de la silice dans les tissus animaux et végétaux.-
- Bull. soc. chim. biol.- 1928, 10, pp. 867 - 868.
(21, 22, 23, 24).
- 75 - LEMATTE (L.), BOINOT (G.), KAHANE (E.) et KAHANE (M.) -
- Emploi du mélange nitro-perchlorique pour le dosage de la silice dans les substances végétales.-
- C.R. Acad. Sc.- 1931, 192, pp. 1459 - 1462.
- Dosage de la silice dans les substances végétales.-
- Bull. soc. chim. biol.- 1931, 13, pp. 668 - 677.
(23, 24).
- 76 - LEMATTE (L.) et KAHANE (E.) - La silice dans l'organisme et les particules siliceuses du sang.- C.R. Acad. Sc.- 1933, 196, pp. 575 - 578.
(16, 17, 23).
- 77 - LERICHE (J.) - Cancérologie.- Maloine éd., Paris, 1948, - pp. 669 et suiv.
(18, 19).

- 78 - LEULIER (A.) et POLICARD (A.) - Sur la teneur en silice des ganglions trachéobronchiques dans la silicose pulmonaire.-
- C.R. soc. biol.- 1931, 106, p. 1034.
(121).
- 79 - LINE (W.R.) et ARADINE (P.W.) - Determination of Quartz in the presence of Silicates.- Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.- 1937, 9, pp. 60 - 63.
(119).
- 80 - LISON (L.) - Histochimie et Cytologie animales. Principes et Méthodes.- Gauthier-Villars éd., Paris, 1953.- pp. 213 - 214.
(118).
- 81 - MARQ (L.) - Le Silicium dans le Règne animal et principalement chez l'Homme.- Thèse doct. Méd., Paris, 1910.
(18, 19, 102, 106, 108).
- 82 - MARTLAND (M.) et ROBISON (R.) - Biochem. Journ.- 1926, 20, pp. 847 - 855.
(58).
- 83 - MARY (A. et A.) - C.R. Acad. Sc.- 1918, 167, pp. 644 - 646.
(18).
- 84 - MEIER (F.W.) et FLEISCHMANN (O.) - Ueber die quantitative Bestimmung der Kieselsäure in löslichen Silicaten.- Zeitschr. f. anal. Chem.- 1932, 88, pp. 84 - 92.
(24).
- 85 - MERVEL (R.V.) - Colorimetric determination of orthophosphate impurity in sodium pyrophosphate by the method of selective extraction.- Zavods. Labor.- 1945, 11, p. 135.
(36).
- 86 - MIKA (J.) - Mikrochem.- 1941, 29, pp. 219 - 234.
(41).
- 87 - MORGAN (J.C.) et KING (E.J.) - A Method for the micro-gravimetric determination of Silica in tissues.- Journ. of biol. Chem.- 1932, 95, pp. 613 - 620.
(25).

- 88 - NASON (N.) - Journ. de Méd. et chir. prat.- 1898, 69, p. 751.
(in LERICHE (J.) (77)).
(18).
- 89 - NIVET - cité par DURAND-FARDEL (30), pp. 127, 171.
(79).
- 90 - OBERHAUSER (F.) et SCHORMULLER (J.) - Eine neue empfindliche
Reaktion auf Kieselsäure.- Zeit. f. anorg. Chem.- 1929, 178,
pp. 381 - 388.
(34).
- 91 - OHLEMAYER (H.P.) et OLPP (U.) - Ueber organisch - gebundenes
Silicium in Tierkörper.- Zeitschr. f. physiol. Chem.- 1944,
281, pp. 203 - 207.
(17).
- 92 - PARRI (W.) et SCOTTI (G.) - Le micro-dosage de la silice dans
les liquides organiques et dans les tissus.- Journ. Pharm. et
Chim.- 1933, 18, pp. 513 - 527.
(15, 29, 31, 34, 38, 39, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52,
53, 59, 60, 82, 84, 86, 87, 101).
- 93 - PFEIFFER (C.) - Métabolisme du silicium.- L'Univers Médical - 1931.
(18).
- 94 - PIERY, CLUZET, ENSEIME, MILHAUD et PONTHUS - Les eaux minérales
ferrugineuses et la cure de Charbonnières-les-Bains (Rhône).-
- Ann. de l'Inst. d'Hydrol. et Climatol.- 1944, 16, pp. 57 - 73.
(78).
- 95 - POLICARD (A.) - Le nodule silicotique pulmonaire.- Presse médi-
-cale.- 1932, n°80, pp. 1495 - 1499.
(118).
- 96 - POLICARD (A.) - Le diagnostic de la silicose sur des pièces
d'exhumation.- Presse méd.- 1947, n°71, p. 821.
(119).
- 97 - POLICARD (A.) et MARTIN (E.) - Bull. Hist. appl.- 1933, 10,
pp. 22 - 36.
(118).

- 98 - POLONOVSKI (M.), BOULANGER (P.), MACHEBOEUF (M.), ROCHE (J.) et SANNIE (C.) - Biochimie Médicale.- Masson éd. Paris, 1947.- p. 641.
(115).
- 99 - PRINTZING - Journ. de Méd. et Chir. prat.- 1903, 74, pp. 636 - 637. (in LERICHE (J.) (77)).
(18).
- 100 - REGNAULT (J.) - Le Var Médical.- Mai 1913. (in LERICHE (J.) (77)).
(19).
- 101 - RICHTER (C.) - Dosage spectrographique du silicium dans le sang.- Arbeitsschutz 1939, n°3 (15 Mars), pp. 141 - 144.
(15, 101).
- 102 - ROBIN (A.) - a) - Bulletin mensuel de la Société d'Etudes scientifiques sur la Tuberculose. (février 1907).

- b) - La silice, la chaux et la Magnésie dans le tissu cancéreux. Application à la Thérapeutique.- Union Pharm.- 1922, p. 71. (in MARQ (L.) (81)).
(18, 19).
- 103 - ROGER (J.R.) - Annalen d. chem. u. Pharm.- 1848, 65, pp. 85 - 99.
(14).
- 104 - ROMAN (W.) - Eine Methode zur Bestimmung des Siliciums in organischem Material, zugleich ein Betrag zur Frage der Konstitution der Ceruleoverbindungen des Molybdäns und Wolframs.- Biochem. Zeitschr.- 1931, 233, pp. 344 - 353.
(28).
- 105 - ROY (C.J.) - Silica in natural waters.- Amer. Journ. Science.- 1945, 243, pp. 393 - 403.
(69).
- 106 - SAUZEAT (H.) - Peut-on doser le quartz libre dans une roche ? - Bull. soc. chim. Fr.- 1948, pp. 271 - 273.
(119).

- I07 - SCHOEFFLER (L.), SARTORY (A.) et PELISSIER (P.) - Sur l'emploi du silicate de soude en injections intraveineuses. Effets physiologiques.- C.R. Acad. Sc.- 1920, 171, pp. 416 - 418. (19).
- I08 - SCHULZ (H.) - Arch. Ges. Physiol.- 1901, 84, p. 67
- Münch. mediz. Wochenschr.- 1902, 49, p. 440.
- Arch. Ges. Physiol.- 1902, 89, p. 112.
- Arch. Ges. Physiol.- 1909, 131, p. 447.
- Münch. mediz. Wochenschr.- 1912, 59, p. 353.
- Biochem. Zeitschr.- 1912, 46, p. 376.
- Biochem. Zeitschr.- 1915, 70, p. 464.
(14, 17, 18; 21).
- I09 - SCHWARTZ (M.C.) - Photometric Determination of Silica in the presence of Phosphates.- Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.- 1942, 14, pp. 893 - 895. (29).
- I10 - SIDERIS (C.P.) - Improvements in the colorimetric Micro-determination of Phosphorus.- Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.- 1942, 14, pp. 762 - 764. (36).
- 111 - SWANK (H.W.) et MELLON (M.H.) - Colorimetric Standards for Silica.- Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.- 1934, 6, pp. 348 - 350. (65).
- 112 - THAYER (L.A.) - Colorimetric determination of Silica in the presence of Phosphates and Iron.- Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.- 1930, 2, pp. 276 - 283. (28, 30, 31).
- 113 - THIEL (A.) - Absolutkolorimetrie.- W. de Gruyter éd., Berlin, 1939. (29, 34).
- 114 - THSCHOPP (E. et E.) - Ueber die Reduktion der Phosphormolyb-dänsäure zu "Molybdänblau", und über die quantitative Bestimmung von Phosphat - neben Silikat - und Arsenationen in der Biologie.- Helv. Chim. Acta.- 1932, 15, pp. 793 - 809. (29).

- 115 - TREADWELL (F.P. et W.D.) - Manuel de Chimie analytique; tome II : analyse quantitative.- Dunod éd., Paris, 1940.- pp. 446 - 448.
(24).
- 116 - TROSTEL (L.J.) et WYNNE (D.J.) - Determination of quartz (free Silica) in refractory Clays.- J. Amer. Ceram. Soc.- 1940, 23, pp. 18 - 22.
(119).
- 117 - VISINTIN (B.) et GANDOLFO (N.) - Ann. chim. appl.- 1941, 31, p. 509.
(34).
- 118 - VIVARIO (M.R.) et CONHAIRE (S.) - Le dosage de la silice dans les tissus.- C.R. du Congrès de l'A.F.A.S.- 1932, p. 442.
(28, 36).
- 119 - WILLARD (H.H.) et CAKE (W.E.) - Perchloric acid as a dehydrating agent, in the Determination of Silica.- J. of Amer. Chem. Soc.- 1920, 42, pp. 2208 - 2212.
(24).
- 120 - WILSON (H.N.) - Volumetric determination of Silicon.- The Analyst.- 1949, 74, pp. 243 - 248.
(42).
- 121 - ZELLER (A.M.) - Münch. mediz. Wochenschr.-
- 1912, 59, pp. 1841 - 1845.
- 1912, 59, pp. 1916 - 1919.
(19).
- 122 - ZICKGRAF (G.) - Beiträge zur Klinik der Tuberkulose.- 1906, 5, p. 399.
(19, 106).
- 123 - ZIMMERMANN (M.) - Bestimmung der Kieselsäure und der Phosphorsäure in Wasser, insbesondere in Kesselspeise-wasser und Kondensaten.- Chemie (Angew. Chem.) - 1942, 55, pp. 28 - 30.
-

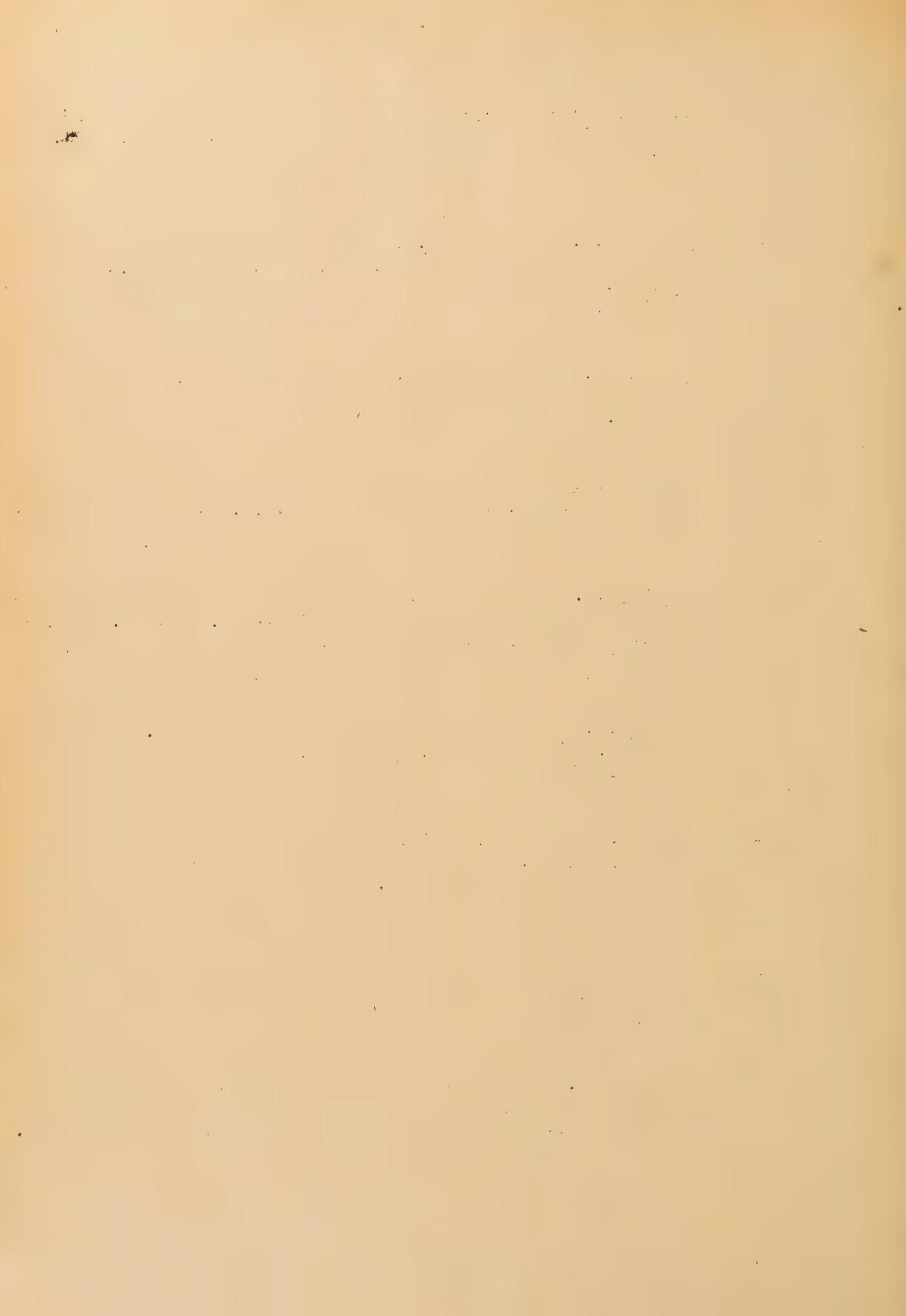


TABLE DES MATIERES

- INTRODUCTION.....

Première partie : GENERALITES

- Chapitre I : Le silicium en biologie animale..... 14
- Chapitre II : Les méthodes de dosage du silicium
utilisables en biologie..... 20
-

Deuxième partie : TRAVAUX PERSONNELS

- Chapitre III : Choix et expérimentation d'une méthode de
dosage du silicium en biologie.
Etude critique de la méthode de
P A R R I et S C O T T I..... 44

- <u>Chapitre IV</u> :	Etude systématique des facteurs physico-chimiques intervenant dans la formation et la réduction du complexe silico-molybdique. Influence perturbatrice de certains ions; moyens de l'éviter.....	52
- <u>Chapitre V</u> :	Applications hydrologiques : Dosage de la silice dans les eaux minérales ou alimentaires.....	69
- <u>Chapitre VI</u> :	Dosage du silicium dans les milieux biologiques. (Mode opératoire personnel)...	82
- <u>Chapitre VII</u> :	Applications biologiques.....	96
- <u>Chapitre VIII</u> :	Applications médico-légales : Dosage et localisation du silicium dans le poumon normal et silicotique.....	117
- <u>CONCLUSIONS</u>		137
- <u>BIBLIOGRAPHIE</u>		140



